

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SALAH BOUBNIDER CONSTANTINE 3

FACULTE DE MEDECINE DR. BELKACEM BENMAIL

Département de Pharmacie



**THESE**

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur En Sciences Médicales (D.E.S.M.)

**Discipline : *Sciences Pharmaceutiques***

***Thème***

**ETUDE DES PRINCIPALES PLANTES MEDICINALES AROMATIQUES  
UTILISEES TRADITIONNELLEMENT EN INFECTIOLOGIE  
RESPIRATOIRE DANS LE NORD-EST ALGERIEN**

*Rédigée et présentée par*

**DALIA Farid**

*Soutenue publiquement*

**Le : 22 Septembre 2022**

*Spécialité*

**PHARMACOGNOSIE**

*Devant le Jury :*

**Présidente : BOUGHANDJIOUA Nadia** **Professeur :** Faculté de Médecine d'Annaba. Algérie.

**Encadreur : BENTCHOUALA Chafia** **Professeur :** Faculté de Médecine de Constantine. Algérie

**Examineur : BELKHIRI Abdelmalik** **Professeur :** Faculté de Médecine de Constantine. Algérie

**Examineur : CHEFROUR Azzedine** **Professeur :** Faculté des Sciences de Souk Ahras. Algérie.

**Examineur : LAOUAR Houcine** **Professeur :** Faculté de Médecine de Constantine. Algérie

**N° d'ordre :**

**CONSTANTINE / ANNEE UNIVERSITAIRE : 2021/2022**

# Remerciements

*En préambule ; Je souhaite rendre grâce à **DIÉU**, le Clément et Miséricordieux de m'avoir donné la force, le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.*

*Ce travail de thèse a été réalisé principalement entre le Laboratoire de Pharmacognosie, le laboratoire de chimie analytique, le laboratoire de Chimie thérapeutique et le Laboratoire de Pharmacologie du Département de Pharmacie de la Faculté de Médecine de Constantine ainsi que le Laboratoire de Biochimie du Centre de recherche en Biotechnologie -CRBT- de Constantine, le laboratoire de chimie du centre de recherche scientifique et technique en analyse physico-chimiques -CRAPC- de Bou Ismail -Tipaza- et le Laboratoire de Microbiologie Médicale du centre Hospitalo-universitaire Ibn Badis de Constantine ; sous la direction du Professeur **BENTCHOUALA Chafia**.*

*Je tiens à exprimer ma vive reconnaissance et mon profond respect à Madame la Professeure **BENTCHOUALA Chafia** ; Directrice de cette thèse pour m'avoir accueilli dans le Laboratoire de Microbiologie Médicale, et surtout pour la confiance qu'elle m'a accordée dans ce travail ; sa disponibilité, ses conseils éclairés et son concours constant dans cette thèse.*

***Je tiens à adresser mes remerciements et à exprimer ma gratitude aux membres de Jury qui ont accepté de juger ce travail malgré leurs multiples occupations :***

***Professeur BOUGHANDJIOUA Nadia** (Faculté de Médecine d'Annaba), en qualité de présidente.*

***Professeur BELKHIRI Abdelmalik** (Faculté de Médecine de Constantine), en qualité d'examineur.*

***Professeur CHEFROUR Azzedine** (Faculté des Sciences de la Vie de Souk-Ahras), en qualité d'examineur.*

***Professeur LAOUAR Houcine** (Faculté de Médecine de Constantine), en qualité d'examineur.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes plus sincères remerciements à Monsieur **DEROUICHE Md Tahar**, Docteur en Pharmacologie à la Faculté de Médecine de Constantine, pour son aide précieuse, sa disponibilité permanente et ses conseils.*

*J'exprime mes vifs remerciements et mon grand respect pour Monsieur **LALAOUNA Abdeldjalil**, Professeur en Chimie analytique à la Faculté de Médecine de Constantine, pour son immense aide et ses précieux conseils.*

*J'exprime également mes sincères remerciements et mon grand respect pour Monsieur GUEROUI Mehdi, Docteur en Chimie thérapeutique à la Faculté de Médecine de Constantine, pour son aide très précieuse dans l'étude « in silico » pratiquée dans ce travail de thèse.*

*Un grand merci pour l'équipe du Laboratoire de Microbiologie Médicale du centre Hospitalo-universitaire Ibn Badis de Constantine pour son chaleureux accueil et son aide précieuse ainsi que l'équipe du centre de recherche en Biotechnologie de Constantine (CRBT), spécialement pour Monsieur Chawki BENSOUICI, Professeur en chimie et chef d'unité de Biochimie qui m'a énormément aidé.*

*Ma reconnaissance et mes remerciements pour l'équipe du laboratoire de chimie du centre de recherche scientifique et techniques en analyse physico-chimique (CRAPC) de Bou Ismail-Tipaza, pour son aide très précieuse.*

*Mon remerciement le plus profond et mon respect, s'adressent spécialement au Pr. BELKHIRI Abd El Malik pour son immense aide, ses conseils, ses orientations et sa solidarité.*

*Enfin, et à l'issue de ce travail, j'ai l'immense plaisir de remercier tous ceux qui m'ont soutenue et participé de près ou de loin pour sa réalisation dans des conditions exceptionnelles.*

# *Dédicaces*

*Avant tous je tiens à remercier Allah le tout puissant de m'avoir guidé et de m'avoir procuré la force, la volonté et la patience tout au long de mon étude.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À la mémoire de mes Parents bien aimés et de tous les êtres chers que j'ai perdu,*

*Qu'ils reposent en paix*

*À ma femme et à mes enfants pour leur encouragement*

*Leur soutien et leur patience*

*À tous mes collègues du département de Pharmacie de Constantine*

*À mes frères, mes amis et à tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce modeste travail*



*À la mémoire de ma Mère,*

*Que Dieu lui accorde son pardon et sa grande miséricorde*

*Savoir n'est pas suffisant,*

*Il faut appliquer*

*Vouloir n'est pas suffisant,*

*Il faut accomplir*

*« Bruce Lee »*

**ABREVIATIONS ET SYMBOLES**

<b>°C</b>	: Degré Celsius
<b>°F</b>	: Fahrenheit
<b>AAS</b>	: Acide acétyl salicylique
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>AFNOR</b>	: Association Française de normalisation
<b>AINS</b>	: Anti inflammatoire non stéroïdien
<b>APGIII</b>	: Classification phylogénétique des angiospermes
<b>ARNm</b>	: Acide ribonucléique messager
<b>ATP</b>	: Adénosine triphosphate
<b>CCM</b>	: Chromatographie sur couche mince
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dioxyde de carbone
<b>COX</b>	: Cyclo-oxygénase
<b>CYP</b>	: Cytochrome
<b>DL50</b>	: Dose létale à 50
<b><i>E.globulus</i></b>	: Eucalyptus globulus
<b>Gr</b>	: Grossissement
<b>Gram -</b>	: Gram négative
<b>Gram +</b>	: Gram positive
<b>H CO<sub>3</sub><sup>+</sup></b>	: Bicarbonate
<b>HCl</b>	: Acide chlorhydrique
<b>ICAM-1</b>	: InterCellular Adhesion Molecule
<b>IgG</b>	: Immunoglobuline de type G
<b>Il -6</b>	: Interleukine 6
<b>IFN-γ</b>	: Interféron gamma
<b>IPP</b>	: Inhibiteur de la pompe à protons
<b>LTB4</b>	: Leukotriene B4
<b>m</b>	: Mètre
<b>mg</b>	: Milligramme
<b>mL</b>	: Millilitre
<b>min</b>	: Minute
<b>kg</b>	: Kilogramme

<b>NaOH</b>	: Hydroxyde de sodium
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nuclear factor-kappa B
<b>MIF</b>	: Macrophage migration inhibitory factor
<b>EBV</b>	: Virus - Epstein-Barr -
<b>CMV</b>	: Cytomégalovirus
<b>OMS</b>	: Organisation mondiale de la santé
<b>s</b>	: Seconde
<b>TNF- <math>\alpha</math></b>	: Facteur de nécrose tumorale (tumor necrosis factor)
<b>VCAM-1</b>	: Vascular cell adhesion protein 1
<b>VO</b>	: Voie orale
<b>HE</b>	: Huile essentielle
<b>SH</b>	: Souche hospitalière
<b>MABP</b>	: Médicament à base de plantes
<b>ISO</b>	: International Standardisation Organisation
<b>BPCO</b>	: Bronchopneumopathie chronique obstructive
<b>PMA</b>	: Plante médicinale aromatique
<b>ATB</b>	: Antibiotique
<b>RL</b>	: Radical libre
<b>DMSO</b>	: Diméthyl sulfoxyde
<b>DPPH</b>	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
<b>GOR</b>	: Galvinoxyl radical
<b>ABTS</b>	: Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
<b>CUPRAC</b>	: Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity
<b>CI50</b>	: Concentration inhibitrice à 50
<b>CPG-MS</b>	: Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectroscopie de masse
<b>CL50</b>	: Concentration létale à 50

<b>Gr</b>	: Grossissement
<b>OXA</b>	: Oxacilline
<b>FOX</b>	: Cefoxitine
<b>PENI</b>	: Penicilline
<b>IMP</b>	: Imipeneme
<b>ERT</b>	: Ertapeneme
<b>CTX</b>	: Cefotaxime
<b>TIC</b>	: Ticarcilline
<b>CAZ</b>	: Ceftazidime
<b>Methi R</b>	: Methicilline Résistant
<b>Carba R</b>	: Carbenicilline Résistant
<b>ABRI R IMP</b>	: <i>Acinetobacter baumannii</i> Resistant Imipeneme
<b>NT</b>	: Non Testé
<b>Synonyme</b>	: Syn

## LISTE DES FIGURES ET SCHEMAS

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>Figure 1</b> : Photos de plantes médicinales et aromatiques. ....	7
<b>Figure 2</b> : Photos de drogues végétales sèches. ....	11
<b>Figure 3</b> : Photos d'échantillons de médicaments à base de plantes. ....	17
<b>Figure 4</b> : Aspect de la Phytothérapie (De la plante au médicament). ....	17
<b>Figure 5</b> : Localisations histologiques des huiles essentielles dans les plantes. ....	23
<b>Figure 6</b> : Isoprène [2-méthyl buta-1,3-diène] .....	24
<b>Figure 7</b> : Structure de quelques monoterpènes .....	25
<b>Figure 8</b> : Diversité structurale des monoterpènes .....	26
<b>Figure 9</b> : Structure d'un polyterpène (caoutchouc naturel). ....	27
<b>Figure 10</b> : Structures de quelques composés aromatiques .....	28
<b>Figure 11</b> : Schéma de biosynthèse des processeurs des terpènes .....	30
<b>Figure 12</b> : Mécanisme réactionnel de la synthèse du limonène.....	31
<b>Figure 13</b> : Montage d'extraction d'HE par hydrodistillation type « Clevenger » .....	33
<b>Figure 14</b> : Montage d'extraction d'HE par entraînement à la vapeur d'eau. ....	34
<b>Figure 15</b> : Schéma de l'extraction d'HE par expression à froid .....	34
<b>Figure 16</b> : Montage d'extraction d'HE assistée par micro-ondes.....	35
<b>Figure 17</b> : Montage d'extraction d'HE par le CO <sub>2</sub> supercritique .....	36
<b>Figure 18</b> : Extracteur de type Soxhlet et Lichens-Nickerson .....	37
<b>Figure 19</b> : Mécanismes de résistances bactériennes vis-à-vis des antibiotiques .....	41
<b>Figure 20</b> : Voies aériennes supérieures. ....	52
<b>Figure 21</b> : Voies respiratoires .....	53
<b>Figure 22</b> : Huile essentiel d'eucalyptus.....	61
<b>Figure 23</b> : <i>Hysope officinalis</i> . ....	62
<b>Figure 24</b> : <i>Verbena officinalis</i> .....	64
<b>Figure 25</b> : <i>Lippia alba</i> . ....	64
<b>Figure 26</b> : <i>Aloysia triphylla</i> .....	64
<b>Figure 27</b> : Verveine odorante. ....	66
<b>Figure 28</b> : Tige de la verveine odorante.....	67
<b>Figure 29</b> : Feuille de la verveine odorante. ....	67
<b>Figure 30</b> : Fleurs de la verveine odorante. ....	67
<b>Figure 31</b> : Répartition géographique et origine de la verveine odorante. ....	68
<b>Figure 32</b> : Feuilles fraîches d' <i>Aloysia triphylla</i> .....	68
<b>Figure 33</b> : Feuilles sèches d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	69
<b>Figure 34</b> : Coupe histologique d'une feuille d' <i>Aloysia triphylla</i> .....	70
<b>Figure 35</b> : Dessin des éléments microscopiques de la poudre de feuilles d' <i>Aloysia triphylla</i> ...	71
<b>Figure 36</b> : Structure des principaux constituants d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	72
<b>Figure 37</b> : Infusion (Verveine odorante). ....	73
<b>Figure 38</b> : Hydrolat (Verveine odorante). ....	73
<b>Figure 39</b> : Huile essentielle (Verveine odorante). ....	73
<b>Figure 40</b> : Plantes de la famille des Lamiaceae. ....	74
<b>Figure 41</b> : <i>Thymus capitatus</i> . ....	77

<b>Figure 42</b> : Tiges et les feuilles de <i>Thymus capitatus</i> .....	77
<b>Figure 43</b> : Fleurs de <i>Thymus capitatus</i> .....	78
<b>Figure 44</b> : Répartition géographique de <i>Thymus capitatus</i> .....	78
<b>Figure 45</b> : Sommités fleuries sèches de thym à têtes.....	79
<b>Figure 46</b> : Feuilles sèches de thym à têtes.....	79
<b>Figure 47</b> : Dessin des éléments microscopiques caractéristiques de la poudre de feuilles de <i>Thymus capitatus</i> .....	80
<b>Figure 48</b> : Structure des principaux constituants de <i>Thymus capitatus</i> .....	81
<b>Figure 49</b> : Huile essentielle de thym.....	82
<b>Figure 50</b> : Sirop au thym.....	82
<b>Figure 51</b> : Origan italien.....	84
<b>Figure 52</b> : Dessin d'origan vulgaire.....	84
<b>Figure 53</b> : Feuilles d'origan vulgaire.....	85
<b>Figure 54</b> : Fleurs d'origan vulgaire.....	85
<b>Figure 55</b> : Fruits d'origan vulgaire.....	86
<b>Figure 56</b> : Répartition géographique d' <i>Origanum vulgare</i> .....	86
<b>Figure 57</b> : Feuilles d'origan vulgaire à l'état frais et à l'état sec.....	87
<b>Figure 58</b> : Coupe histologique de la feuille d'origan vulgaire.....	88
<b>Figure 59</b> : Dessin des éléments microscopiques caractéristiques de la poudre de feuilles d'origan vulgaire.....	89
<b>Figure 60</b> : Structure de quelques composés terpéniques majoritaires d'origan vulgaire.....	90
<b>Figure 61</b> : Plantes de la famille des Myrtaceae.....	94
<b>Figure 62</b> : <i>Eucalyptus globulus</i> .....	96
<b>Figure 63</b> : Dessin d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	97
<b>Figure 64</b> : Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	97
<b>Figure 65</b> : Fleurs d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	98
<b>Figure 66</b> : Fruits d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	99
<b>Figure 67</b> : Répartition géographique du genre <i>Eucalyptus</i> dans le monde.....	99
<b>Figure 68</b> : Feuilles sèches et fraîches d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	100
<b>Figure 69</b> : Aspect microscopique d'une coupe histologique de la feuille d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	101
<b>Figure 70</b> : Dessin des éléments microscopiques caractéristiques de la poudre de feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	102
<b>Figure 71</b> : Structure de quelques composés terpéniques majoritaires de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	103

## DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

<b>Figure 72</b> : Localisation des zones objets des enquêtes.....	110
<b>Figure 73</b> : Répartition des enquêtés (consommateurs) par wilaya.....	112
<b>Figure 74</b> : Répartition des enquêtés (connaisseurs) par wilaya.....	113
<b>Figure 75</b> : Synoptique des enquêtes ethnopharmacologiques.....	115
<b>Figure 76</b> : Nature de traitement préconisé / utilisé en infectiologie respiratoire.....	118
<b>Figure 77</b> : Plantes utilisées pour le traitement d'infections respiratoires.....	119
<b>Figure 78</b> : Plantes les plus recommandées par type d'affection respiratoire.....	121



<b>Figure 79</b> : Motifs de (conseil/livraison) de traitement traditionnel à base de plantes pour le soin d'affections respiratoires.....	122
<b>Figure 80</b> : Connaissance de la plante (Verveine).....	127
<b>Figure 81</b> : Indications principales de la plante (Verveine).....	128
<b>Figure 82</b> : Partie utilisée de la plante (Verveine).....	129
<b>Figure 83</b> : Modes d'utilisations de la plante (Verveine). ....	130
<b>Figure 84</b> : Résultats du traitement par cette plante (Verveine). ....	131
<b>Figure 85</b> : Indications principales de la plante (Thym).....	133
<b>Figure 86</b> : Modes d'utilisations de la plante (Thym). ....	134
<b>Figure 87</b> : Résultats du traitement par cette plante (Thym). ....	135
<b>Figure 88</b> : Connaissance de la plante (Eucalyptus).....	136
<b>Figure 89</b> : Indications principales de la plante (Eucalyptus).....	138
<b>Figure 90</b> : Partie utilisée de la plante (Eucalyptus).....	139
<b>Figure 91</b> : Modes d'utilisations de la plante (Eucalyptus). ....	140
<b>Figure 92</b> : Résultat du traitement par cette plante (Eucalyptus). ....	140
<b>Figure 93</b> : Position de point de récolte et photo d'une touffe de la verveine ( <i>Aloysia triphylla</i> ). .....	144
<b>Figure 94</b> : Positions de points de récolte GPS et photos de l'origan ( <i>Origanum vulgare</i> .); et le thym ( <i>Thymus capitatus</i> ). ....	145
<b>Figure 95</b> : Position de point de récolte et photo d'une branche fleurie d'eucalyptus ( <i>Eucalyptus globulus</i> ). ....	145
<b>Figure 96</b> : Quelques drogues végétales des plantes médicinales sélectionnées. ....	146
<b>Figure 97</b> : Extraction et calcul de rendement en HES. ....	149
<b>Figure 98</b> : Réfractomètre.....	151
<b>Figure 99</b> : Titrage pour calcul de l'indice d'acide. ....	153
<b>Figure 100</b> : Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse .....	155
<b>Figure 101</b> : Souris albinos mâles (souche SWISS).....	157
<b>Figure 102</b> : Analgésimètre et modalité d'évaluation de l'activité analgésique. ....	159
<b>Figure 103</b> : Étapes de tests « <i>in vivo</i> » [Protocole de Levy et Analgésimètre]. ....	162
<b>Figure 104</b> : Pléthysmomètre.....	163
<b>Figure 105</b> : Structure chimique du radical galvinoxyl [318]. ....	168
<b>Figure 106</b> : Lecteur de microplaque (Marque : Enspire Perkin Elmer, USA). ....	169
<b>Figure 107</b> : Structure et couleur de l'ABTS et de sa forme oxydée ABTS <sup>•+</sup> .....	169
<b>Figure 108</b> : Pratique de l'activité ABTS - dépôt du radical libre sur microplaque -. ....	170
<b>Figure 109</b> : Réduction du radical DPPH en présence d'un antioxydant. ....	171
<b>Figure 110</b> : Principe de la réaction CUPRAC. ....	172
<b>Figure 111</b> : Activité inhibitrice de l'AChE - Principe de la méthode d'Ellman -. ....	174
<b>Figure 112</b> : Mesure de pH du milieu.....	178
<b>Figure 113</b> : Incubateur.....	178
<b>Figure 114</b> : Larves d' <i>Artemia salina</i> . ....	178
<b>Figure 115</b> : Essai de cytotoxicité réalisé sur microplaque. ....	179
<b>Figure 116</b> : Logiciel Avogadro.....	181
<b>Figure 117</b> : Logiciel Discovery studio. ....	182
<b>Figure 118</b> : Logiciel Autodocktools.....	182
<b>Figure 119</b> : L'enzyme 5fla non simplifié. ....	186

<b>Figure 120</b> : L'enzyme 5fla simplifié. ....	186
<b>Figure 121</b> : La protéines 6mls non simplifié. ....	187
<b>Figure 122</b> : La protéine 5l3j non simplifié. ....	187
<b>Figure 123</b> : La protéine 3vsl non simplifié. ....	187
<b>Figure 124</b> : La protéine 3zih non simplifié. ....	187
<b>Figure 125</b> : La protéines 6mls simplifié. ....	188
<b>Figure 126</b> : La protéine 5l3j simplifié. ....	188
<b>Figure 127</b> : La protéine 3vsl simplifié. ....	188
<b>Figure 128</b> : La protéine 3zih simplifié. ....	188
<b>Figure 129</b> : Importation de la protéine et le ligand dans l'espace de travail. ....	190
<b>Figure 130</b> : Préparation des paramètres de la boîte de docking. ....	190
<b>Figure 131</b> : Détermination des paramètres de docking moléculaire. ....	191
<b>Figure 132</b> : Exécution des paramètres du grid box et de docking moléculaire. ....	191
<b>Figure 133</b> : Coupe transversale de la feuille d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	196
<b>Figure 134</b> : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	197
<b>Figure 135</b> : Coupe transversale du limbe de la feuille d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	198
<b>Figure 136</b> : Poils non sécréteurs de la poudre de feuilles d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	199
<b>Figure 137</b> : Poils sécréteurs et stomates anomocytiques de la poudre de feuilles d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	200
<b>Figure 138</b> : Autres éléments de la poudre de feuilles d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	200
<b>Figure 139</b> : Coupe transversale de la feuille de <i>Thymus capitatus</i> . ....	201
<b>Figure 140</b> : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille de <i>Thymus capitatus</i> .....	202
<b>Figure 141</b> : Coupe transversale du limbe de la feuille de <i>Thymus capitatus</i> . ....	203
<b>Figure 142</b> : Stomates de type diacytique de la poudre de feuilles de <i>Thymus capitatus</i> . ....	204
<b>Figure 143</b> : Poils sécréteurs de la poudre de feuilles de <i>Thymus capitatus</i> . ....	204
<b>Figure 144</b> : Poils tecteurs de la poudre de feuilles de <i>Thymus capitatus</i> . ....	205
<b>Figure 145</b> : Autres éléments de la poudre de feuilles de <i>Thymus capitatus</i> . ....	205
<b>Figure 146</b> : Coupe transversale de la feuille d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	206
<b>Figure 147</b> : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	207
<b>Figure 148</b> : Coupe transversale du limbe de la feuille d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	207
<b>Figure 149</b> : Poils tecteurs et sécréteurs d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	208
<b>Figure 150</b> : Fragments d'épiderme supérieur et inférieur caractéristiques de la poudre de feuilles d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	209
<b>Figure 151</b> : Poils sécréteurs de la poudre de feuilles d' <i>Origanum vulgare</i> .....	209
<b>Figure 152</b> : Poils tecteurs pluricellulaires et grains de pollen caractéristiques de la poudre de feuilles d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	210
<b>Figure 153</b> : Autres éléments non caractéristiques de la poudre de feuilles d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	210
<b>Figure 154</b> : Coupe transversale de la feuille d' <i>Eucalyptus globulus</i> L. ....	211
<b>Figure 155</b> : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille d' <i>Eucalyptus globulus</i> L. ....	212
<b>Figure 156</b> : Coupe transversale du limbe de la feuille d' <i>Eucalyptus globulus</i> L. ....	212
<b>Figure 157</b> : Stomates et poils sécréteurs caractéristiques de la poudre de feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> L. ....	213

<b>Figure 158</b> : Fragments de poche sécrétrice schizogène caractéristiques de la poudre de feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> L. ....	214
<b>Figure 159</b> : Cellules avec prismes et macles d'oxalate de calcium caractéristiques de la poudre de feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> L. ....	214
<b>Figure 160</b> : Autres éléments de la poudre de feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> L. ....	215
<b>Figure 161</b> : Histogramme comparatif des rendements en HE (%) des quatre drogues étudiées .....	217
<b>Figure 162</b> : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE d' <i>A. triphylla</i> . ....	220
<b>Figure 163</b> : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE de <i>Thymus capitatus</i> . ....	225
<b>Figure 164</b> : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i> . ....	229
<b>Figure 165</b> : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE d' <i>E. globulus</i> . ....	232
<b>Figure 166</b> : Force moyenne (N) mesurée à l'Analgésimètre. ....	236
<b>Figure 167</b> : Poids moyen d'œdèmes en mg mesurés selon le Protocole de Levy. ....	239
<b>Figure 168</b> : Pourcentages d'inhibition d'œdèmes selon le Protocole de Levy. ....	239
<b>Figure 169</b> : Étude comparative multiple de l'activité anti-inflammatoire par le test de Tukey (Protocole de Levy). ....	242
<b>Figure 170</b> : Volumes moyens d'œdèmes en millimètre cube mesurés par Pléthysmomètre. ..	243
<b>Figure 171</b> : Pourcentages d'inhibitions d'œdème selon la technique de Pléthysmomètre. ....	244
<b>Figure 172</b> : Étude comparative multiple de l'activité antiinflammatoire Selon la technique de Pléthysmomètre par le test de Kruskal-Wallis. ....	245
<b>Figure 173</b> : Résultats d'aromatogrammes pour la souche d' <i>E.coli</i> . (SH). ....	247
<b>Figure 174</b> : Résultats d'aromatogrammes pour quelques germes testés et d'antibiogrammes témoins. ....	248
<b>Figure 175</b> : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+) (B)] traitées par différentes dilutions de l'HE d' <i>E.globulus</i> . ....	250
<b>Figure 176</b> : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+) (B)] traitées par différentes dilutions de l'HE d' <i>A.triphylla</i> . ....	251
<b>Figure 177</b> : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+) (B)] traitées par différentes dilutions de l'HE d' <i>T.capitatus</i> . ....	252
<b>Figure 178</b> : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+) (B)] traitées par différentes dilutions de l'HE d' <i>O.vulgare</i> . ....	253
<b>Figure 179</b> : Niveau de sensibilité d' <i>E.coli</i> [ATCC (A) et SH (B)] traitées par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin. ....	255
<b>Figure 180</b> : Niveau de sensibilité de <i>S.aureus</i> [ATCC (A) et SH (B)] traitées par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin. ....	256
<b>Figure 181</b> : Niveau de sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> [ATCC (A) et SH (B)] traitées par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin. ....	257
<b>Figure 182</b> : Niveau de sensibilité d' <i>A. baumannii</i> SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin. ....	258
<b>Figure 183</b> : Niveau de sensibilité de <i>Streptococcus sp.</i> SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin. ....	259
<b>Figure 184</b> : Niveau de sensibilité de <i>K. pneumoniae</i> SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin. ....	260
<b>Figure 185</b> : Niveau de sensibilité de <i>C. albicans</i> SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v). ....	261

<b>Figure 186</b> : Valeurs $CI_{50}$ des quatre extraits d'HEs étudiés par le test GOR. ....	266
<b>Figure 187</b> : Valeurs $CI_{50}$ des quatre extraits d'HEs étudiés dans la méthode de piégeage de l'ABTS.....	267
<b>Figure 188</b> : Valeurs $CI_{50}$ des quatre extraits d'HEs étudiés dans la méthode de piégeage du DPPH. ....	268
<b>Figure 189</b> : Capacité antioxydante par réduction du cuivre des quatres extraits d'HEs étudiés. ....	269
<b>Figure 190</b> : Valeurs $CI_{50}$ des quatre extraits d'HEs étudiés dans l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.....	274
<b>Figure 191</b> : Valeurs $CI_{50}$ des quatre extraits d'HEs étudiés dans l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase. ....	275
<b>Figure 192</b> : Détermination de la $CL_{50}$ de l'HE du <i>Thymus capitatus</i> .....	279
<b>Figure 193</b> : Détermination de la $CL_{50}$ de l'HE d' <i>Aloysia triphylla</i> . ....	279
<b>Figure 194</b> : Superposition des conformations obtenues par ligands natifs (colorés en rouge) et par docking moléculaire avec AutoDock (colorés en noir). ....	285
<b>Figure 195</b> : Structure 3D d'interaction de l'acide salicylique avec le site actif du 5f1a.....	286
<b>Figure 196</b> : Structure 2D d'interaction de l'acide salicylique avec le site actif du 5f1a.....	286
<b>Figure 197</b> : Structures chimiques des meilleurs inhibiteurs. ....	288
<b>Figure 198</b> : Représentation 3D d'intéraction de l'alpha-Pinène avec le site actif de 5f1a.....	289
<b>Figure 199</b> : Représentation 2D d'intéraction de l'alpha-Pinene avec le site actif de 5f1a.....	289
<b>Figure 200</b> : Représentation 3D d'intéraction de 1-8-Cinéole avec le site actif de 5f1a.....	290
<b>Figure 201</b> : Représentation 2D d'intéraction de 1-8-Cinéole avec le site actif de 5f1a.....	290
<b>Figure 202</b> : Représentation 3D d'intéraction de la D-Limonène avec le site actif de 5f1a.....	291
<b>Figure 203</b> : Représentation 2D d'intéraction de la D-Limonène avec le site actif de 5f1a.....	291
<b>Figure 204</b> : Représentation 3D d'interaction du Carvacol avec le site actif de 5f1a. ....	292
<b>Figure 205</b> : Représentation 2D d'interaction du Carvacol avec le site actif de 5f1a. ....	292
<b>Figure 206</b> : Représentation 3D d'interaction du Thymol avec le site actif de 5f1a.....	293
<b>Figure 207</b> : Représentation 2D d'interaction d'interaction du Thymol avec le site actif de 5f1a. ....	293

## LISTE DES TABLEAUX

## PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>Tableau 1</b> : Traitement de fond de l'asthme	60
<b>Tableau 2</b> : Classification APGIII de la verveine odorante « <i>Aloysia triphylla</i> . »	66
<b>Tableau 3</b> : Liste des noms vernaculaires d' <i>Aloysia triphylla</i> .	66
<b>Tableau 4</b> : Classification APGIII de thym à têtes « <i>Thymus capitatus</i> . »	76
<b>Tableau 5</b> : Liste des noms vernaculaires du <i>Thymus capitatus</i>	76
<b>Tableau 6</b> : Classification APGIII (2009) de l'Origan vulgare « <i>Origanum vulgare</i> . »	84
<b>Tableau 7</b> : Liste des noms vernaculaires d' <i>Origanum vulgare</i> .	84
<b>Tableau 8</b> : Classification APGIII (2009) d'Eucalyptus « <i>Eucalyptus globulus</i> L. »	96
<b>Tableau 9</b> : Liste des noms vernaculaires d' <i>Eucalyptus globulus</i> L.	97

## DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

<b>Tableau 10</b> : Caractéristiques climatique et floristique des localités enquêtées	110
<b>Tableau 11</b> : Répartition des enquêtés par espèce et par wilaya	114
<b>Tableau 12</b> : Variabilités socioculturelles de la population enquêtée	117
<b>Tableau 13</b> : Nature de traitement préconisé / utilisé en infectiologie respiratoire	117
<b>Tableau 14</b> : Plantes utilisées pour le traitement d'infections respiratoires	119
<b>Tableau 15</b> : Variabilités socioculturelles des connaisseurs enquêtés	120
<b>Tableau 16</b> : Plantes les plus recommandées par type d'affection respiratoire	121
<b>Tableau 17</b> : Motifs de (conseil / livraison) de traitement traditionnel à base de plantes pour le soin d'affections respiratoires	122
<b>Tableau 18</b> : Plantes utilisées pour le traitement d'affections respiratoires classées selon la fréquence de citation	123
<b>Tableau 19</b> : Catégories de plantes selon l'origine des citations	124
<b>Tableau 20</b> : Décodification des noms vernaculaires	125
<b>Tableau 21</b> : Variabilités socioculturelles des enquêtés (enquête phase II)	126
<b>Tableau 22</b> : Connaissance de la plante (Verveine)	127
<b>Tableau 23</b> : Indications principales de la plante (Verveine)	128
<b>Tableau 24</b> : Partie utilisée de la plante (Verveine)	129
<b>Tableau 25</b> : Modes d'utilisations de la plante (Verveine)	130
<b>Tableau 26</b> : Résultats du traitement par cette plante (Verveine)	130
<b>Tableau 27</b> : Indications principales de la plante (Thym)	132
<b>Tableau 28</b> : Modes d'utilisations de la plante (Thym)	134
<b>Tableau 29</b> : Résultats du traitement par cette plante (Thym)	135
<b>Tableau 30</b> : Connaissance de la plante (Eucalyptus)	136
<b>Tableau 31</b> : Indications principales de la plante (Eucalyptus)	137
<b>Tableau 32</b> : Partie utilisée de la plante (Eucalyptus)	139
<b>Tableau 33</b> : Modes d'utilisations de la plante (Eucalyptus)	139
<b>Tableau 34</b> : Résultat du traitement par cette plante (Eucalyptus)	140
<b>Tableau 35</b> : Approvisionnement du matériels végétaux à partir de plantes médicinales étudiées	144

<b>Tableau 36</b> : Matériels utilisés dans les études botaniques	146
<b>Tableau 37</b> : Préparation de la solution de KOH	152
<b>Tableau 38</b> : Vérification du titre de la solution de KOH	152
<b>Tableau 39</b> : Tests utilisés pour l'évaluation des activités analgésique et anti inflammatoire	156
<b>Tableau 40</b> : Matériels utilisés dans les études pharmacologiques	157
<b>Tableau 41</b> : Concentrations testées des huiles essentielles étudiées	160
<b>Tableau 42</b> : Liste et caractéristiques des souches microbiennes de référence	165
<b>Tableau 43</b> : Liste et caractéristiques des souches microbiennes hospitalières	165
<b>Tableau 44</b> : Caractères organoleptiques des quatre drogues étudiées	194
<b>Tableau 45</b> : Caractères morphologiques des quatre drogues étudiées	195
<b>Tableau 46</b> : Caractères organoleptiques des HEs extraites	216
<b>Tableau 47</b> : Rendements en huiles essentielles des drogues végétales étudiées	217
<b>Tableau 48</b> : Exigences de différentes références en matière de rendement	218
<b>Tableau 49</b> : Valeurs d'indices physicochimiques des HEs étudiées	218
<b>Tableau 50</b> : Résultats de la miscibilité à l'éthanol des HEs étudiées	219
<b>Tableau 51</b> : Composition chimique de l'HE des feuilles d' <i>A.triphylla</i> .	220
<b>Tableau 52</b> : Composition de l'HE d' <i>A.triphylla</i> selon sa provenance	223
<b>Tableau 53</b> : Composition chimique de l'HE des feuilles de <i>Thymus capitatus</i> .	225
<b>Tableau 54</b> : Composition de l'HE de <i>T.capitatus</i> selon sa provenance	228
<b>Tableau 55</b> : Composition chimique de l'HE des feuilles d' <i>Origanum vulgare</i> .	229
<b>Tableau 56</b> : Composition de l'HE d' <i>O.vulgare</i> selon sa provenance	231
<b>Tableau 57</b> : Composition chimique de l'HE des feuilles d' <i>E.globulus</i> .	232
<b>Tableau 58</b> : Composition de l'HE d' <i>E.globulus</i> de différentes régions d'Algérie	234
<b>Tableau 59</b> : Force moyenne (N) mesurée à l'aide de l'Analgésimètre	236
<b>Tableau 60</b> : Résultats d'étude comparative de l'activité analgésique par le test Student (Analgésimètre)	237
<b>Tableau 61</b> : Étude comparative multiple de l'activité analgésique par le test de Tukey	237
<b>Tableau 62</b> : Classification en sous-ensembles en se basant sur les résultats de la comparaison multiple de l'activité analgésique par le test de Tukey	238
<b>Tableau 63</b> : Poids moyen d'œdèmes en mg mesurés selon le protocole de Levy	239
<b>Tableau 64</b> : Résultats d'étude comparative de l'activité anti-inflammatoire par le test-t de Student (Protocole de Levy)	240
<b>Tableau 65</b> : Étude comparative multiple de l'activité antiinflammatoire par le test de Tukey (Protocole de Levy)	241
<b>Tableau 66</b> : Classification en sous-ensembles en se basant sur les résultats de la compraison multiple de l'activité anti-inflammatoire par le test de Tukey	242
<b>Tableau 67</b> : Volumes moyens d'œdèmes en millimètre cube mesurés par Pléthysmomètre	243
<b>Tableau 68</b> : Résultats d'étude comparative de l'activité anti-inflammatoire mesuré par le test Z de Kolmogorov-Smirnov (Pléthysmomètre)	244
<b>Tableau 69</b> : Étude comparative multiple de l'activité anti-inflamatoire selon la technique de Pléthysmomètre par le test de Kruskal-Wallis	245
<b>Tableau 70</b> : Synthèse de niveau de sensibilité de bactéries testées vis-à-vis des HEs étudiées	262
<b>Tableau 71</b> : Résultats du test GOR des quatre extraits d'HEs étudiés	266



<b>Tableau 72</b> : Résultats de l'activité inhibitrice du radical libre ABTS <sup>•+</sup> des quatre extraits d'HEs étudiés	267
<b>Tableau 73</b> : Résultats du test DPPH des quatre extraits d'HEs étudiés	268
<b>Tableau 74</b> : Résultats de l'activité CUPRAC des quatre extraits d'HEs étudiés	269
<b>Tableau 75</b> : activité antiradicalaire des huiles essentielles vs antioxydants témoins	270
<b>Tableau 76</b> : Résultats de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase des quatre extraits d'HEs étudiés	273
<b>Tableau 77</b> : Résultats de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase des quatre extraits d'HEs étudiés	274
<b>Tableau 78</b> : activité inhibitrice enzymatique sur les quatre enzymes étudiées	275
<b>Tableau 79</b> : Nombre de larves survivantes par puits de microplaque en fonction de la concentration d'HE	278
<b>Tableau 80</b> : Pourcentage de mortalité des larves en fonction de la concentration d'HE	278
<b>Tableau 81</b> : Concentration létale CL <sub>50</sub> des HEs étudiées	280
<b>Tableau 82</b> : Règles de LIPINSKI	281
<b>Tableau 83</b> : Propriétés physicochimiques	282
<b>Tableau 84</b> : Propriétés pharmacocinétiques	282
<b>Tableau 85</b> : Tests de toxicité	283
<b>Tableau 86</b> : les 4 complexes utilisés pour tester la fiabilité du protocole de docking par Auto dock 4.2	285
<b>Tableau 87</b> : Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire (activité antiinflammatoire)	287
<b>Tableau 88</b> : Scores des différents ligands (activité antibactérienne)	294

# SOMMAIRE

Remerciements .....	i
Dédicaces.....	iii
Abreviations et symboles.....	v
Liste des figures et schémas .....	viii
Liste des tableaux .....	xiv
Sommaire .....	xvii
Introduction.....	2

## PREMIERE PARTIE : *SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE*

### CHAPITRE I : *APERÇU GENERALE : PLANTES MEDICINALES, PHYTOTHERAPIE ET AROMATHERAPIE*

<b>I.I. PLANTES MEDICINALES .....</b>	<b>7</b>
I.I.1. DEFINITIONS.....	7
I.I.2. ORIGINE.....	7
I.I.3. METHODES DE RECHERCHE DES PLANTES MEDICINALES ET SUBSTANCES NATURELLES BIOLOGIQUEMENT ACTIVES.....	8
<b>I.II. DROGUES VEGETALES .....</b>	<b>9</b>
I.II.1. DEFINITION.....	9
I.II.2. RECOLTE.....	10
I.II.3. CONSERVATION ET STOCKAGE.....	10
<b>I.III. CONTROLES DES PLANTES MEDICINALES ET DROGUES VEGETALES..</b>	<b>12</b>
I.III.1. CONTROLE BOTANIQUE .....	12
I.III.2. CONTROLE PHYSICO-CHIMIQUE.....	12
I.III.3. CONTROLE BIOLOGIQUE.....	14
I.III.4. NORMALISATION ET STANDARDISATION DES PLANTES MEDICINALES ET DROGUES VEGETALES .....	14
<b>I.IV. TERMINOLOGIE .....</b>	<b>15</b>
I.IV.1. PREPARATIONS A BASE DE DROGUES VEGETALES.....	15
I.IV.2. TOTUM .....	15
I.IV.3. MATIERES PREMIERES.....	15
I.IV.4. PRINCIPES ACTIFS.....	16
I.IV.5. CONSTITUANTS A EFFETS THERAPEUTIQUES .....	16
I.IV.6. MEDICAMENTS A BASE DE PLANTES .....	16
<b>I.V. PHYTOTHERAPIE ET AROMATHERAPIE .....</b>	<b>17</b>
I.V.1. DEFINITIONS .....	17
I.V.2. ETHNOBOTANIQUE ET ETHNOPHARMACOLOGIE.....	18

## **CHAPITRE II : SUBSTANCES NATURELLES BIOACTIVES DES PLANTES MEDICINALES ET HUILES ESSENTIELLES**

<b>II.I. APERÇU SUR LES CONSTITUANTS NATURELS BIOACTIFS .....</b>	<b>21</b>
II.I.1. COMPOSES PHENOLIQUES.....	21
II.I.2. COMPOSES AZOTES (LES ALCALOÏDES).....	21
II.I.3. STEROÏDES ET TRITERPENES.....	22
<b>II.II. LES HUILES ESSENTIELLES.....</b>	<b>22</b>
II.II.1. DEFINITION DES HUILES ESSENTIELLES.....	22
II.II.2. REPARTITION BOTANIQUE ET LOCALISATION.....	22
II.II.3. COMPOSITION CHIMIQUE ET ORIGINE BIOSYNTHETIQUE DES HUILES ESSENTIELLES .....	23
II.II.4. NOTION DE CHEMOTYPE.....	31
II.II.5. CARACTERES PHYSIQUES.....	32
II.II.6. PROCEDES D'EXTRACTION.....	32
II.II.7. ANALYSES ET CONTROLES.....	37
II.II.8. FONCTIONS PHYSIOLOGIQUES ET PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES .....	39
II.II.9. TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES.....	45
II.II.10. CONSERVATION DES HUILES ESSENTIELLES.....	46
II.II.11. EMPLOIS PHARMACEUTIQUES ET EXTRA-PHARMACEUTIQUES DES HUILES ESSENTIELLES.....	47
II.II.12. MARCHE MONDIAL DES HUILES ESSENTIELLES.....	49

## **CHAPITRE III : ANATOMIE, PHYSIOLOGIE ET INFECTIOLOGIE DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE**

<b>III.I. RAPPEL ANATOMIQUE .....</b>	<b>51</b>
III.I.1. DEFINITION DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE .....	51
III.I.2. VOIES RESPIRATOIRES SUPERIEURES .....	51
III.I.3. VOIES RESPIRATOIRES INFERIEURES .....	52
<b>III.II. RAPPEL PHYSIOLOGIQUE .....</b>	<b>53</b>
III.II.1. VOIES RESPIRATOIRES SUPERIEURES.....	53
III.II.2. VOIES RESPIRATOIRES INFERIEURES.....	54
<b>III.III. MECANIQUE VENTILATOIRE.....</b>	<b>55</b>
III.III.1. INSPIRATION.....	55
III.III.2. EXPIRATION.....	55
<b>III.IV. INFECTIONS RESPIRATOIRES .....</b>	<b>56</b>
III.IV.1. DEFINITION DE L'INFECTION RESPIRATOIRE.....	56
III.IV.2. PATHOLOGIES RESPIRATOIRES AIGÛES.....	56
III.IV.3. PATHOLOGIES RESPIRATOIRES CHRONIQUES .....	57

III.IV.4. TRAITEMENTS RECOMMANDÉS .....	58
---	----

## CHAPITRE IV : MONOGRAPHIE DE PLANTES MEDICINALES AROMATIQUES ETUDIEES

<b>IV.I. VERVEINE ODORANTE : « <i>Aloysia citriodora</i> Palau » .....</b>	<b>64</b>
IV.I.1. FAMILLE DES VERBENACEAE .....	64
IV.I.2. LE GENRE <i>Aloysia</i> .....	65
IV.I.3. L'ESPÈCE « <i>Aloysia citriodora</i> Palau » .....	66
<b>IV.II. THYM ET ORIGAN .....</b>	<b>74</b>
IV.II.1. FAMILLE DES LAMIACEAE .....	74
IV.II.2. LE GENRE <i>Thymus</i> .....	75
IV.II.3. LE GENRE <i>Origanum</i> .....	83
<b>IV.III. EUCALYPTUS : « <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.» .....</b>	<b>94</b>
IV.III.1. FAMILLE DES MYRTACEAE .....	94
IV.III.2. LE GENRE <i>Eucalyptus</i> .....	95
IV.III.3. L'ESPÈCE « <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. » .....	96

## DEUXIÈME PARTIE : PARTIE EXPÉRIMENTALE

### CHAPITRE V : ENQUÊTES ETHNOPHARMACOLOGIQUES

### CHAPITRE VI : MATÉRIELS & MÉTHODES

<b>VI.1. MATÉRIEL VÉGÉTAL .....</b>	<b>144</b>
<b>VI.2. ESSAIS BOTANIQUES .....</b>	<b>146</b>
VI.2.1. EXAMEN MACROSCOPIQUE .....	147
VI.2.1.1. Test morphologique .....	147
VI.2.1.2. Test organoleptique .....	147
VI.2.2. EXAMEN MICROSCOPIQUE .....	147
VI.2.2.1. Coupes histologiques (Technique de la double coloration) .....	147
VI.2.2.2. Poudres .....	148
<b>VI.3. ESSAIS PHYSICO-CHIMIQUES .....</b>	<b>149</b>
VI.3.1. EXTRACTION ET OBTENTION DES HUILES ESSENTIELLES .....	149
VI.3.2. CALCUL DU RENDEMENT .....	150
VI.3.3. CARACTÉRISATION PHYSICOCHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES ....	150
VI.3.4. ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES PAR CPG/SM .....	154
<b>VI.4. ESSAIS BIOLOGIQUES .....</b>	<b>156</b>
VI.4.1. TESTS « <i>IN VIVO</i> » .....	156
VI.4.1.1. Matériels .....	156
VI.4.1.2. Détails des protocols .....	158
VI.4.1.2.1. Évaluation de l'activité analgésique .....	158

VI.4.1.2.2. Évaluation de l'activité antiinflammatoire .....	160
<b>VI.4.2. TESTS « IN VITRO » .....</b>	<b>164</b>
VI.4.2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	164
VI.4.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante .....	167
VI.4.2.2.1. Test du radical galvinoxyl (GOR) .....	168
VI.4.2.2.2. Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS).....	169
VI.4.2.2.3. Test du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl- (DPPH').....	171
VI.4.2.2.4. Test du radical cuivre II – neocuproïne (CUPRAC).....	172
VI.4.2.3. Evaluation de l'activité inhibitrice d'enzymes.....	173
VI.4.2.3.1. Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) .....	173
VI.4.2.3.2. Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE).....	175
VI.4.2.3.3. Activité inhibitrice de la tyrosinase .....	175
VI.4.2.3.4. Activité inhibitrice de l'uréase .....	176
<b>VI.5. ESSAI DE TOXICITE .....</b>	<b>177</b>
<b>VI.6. TESTS « IN SILICO ».....</b>	<b>180</b>
VI.6.1. ETUDE IN SILICO (ADMET ; DOCKING MOLECULAIRE) DE L'ACTIVITE ANTIINFLAMMATOIRE ET ANTIBACTERIENNE .....	181

## **CHAPITRE VII : RESULTATS & DISCUSSIONS**

<b>VII.1. ESSAIS BOTANIQUES .....</b>	<b>194</b>
VII.1.1. ANALYSE MACROSCOPIQUE .....	194
VII.1.2. ANALYSE MICROSCOPIQUE.....	196
<b>VII.2. ESSAIS PHYSICOCHIMIQUES.....</b>	<b>216</b>
VII.2.1. CARACTERES DES HUILES ESSENTIELLES .....	216
VII.2.2. RENDEMENTS D'EXTRACTIONS DES HUILES ESSENTIELLES.....	216
VII.2.3. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUES DES HUILES ESSENTIELLES.....	218
VII.2.4. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE CPG-SM.....	220
<b>VII.3. ESSAIS BIOLOGIQUES .....</b>	<b>236</b>
VII.3.1. TESTS « IN VIVO » .....	236
VII.3.1.1. Activité analgésique.....	236
VII.3.1.2. Activité anti-inflammatoire .....	239
VII.3.2. TESTS « IN VITRO » .....	247
VII.3.2.1. Activité antimicrobienne.....	247
VII.3.2.2. Activité anti-oxydante.....	266
VII.3.2.2.1. Le test galvinoxyl radical (GOR).....	266
VII.3.2.2.2. Activité inhibitrice du radical libre ABTS .....	267
VII.3.2.2.3. Activité inhibitrice du radical libre DPPH.....	268
VII.3.2.2.4. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) .....	269
VII.3.2.3. Activité inhibitrice d'enzyme .....	273
VII.3.2.3.1. Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.....	273

<i>VII.3.2.3.2. Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase .....</i>	<i>274</i>
<b>VII.4. ESSAI DE TOXICITE.....</b>	<b>278</b>
<b>VII.5. TESTS « IN SILICO ».....</b>	<b>281</b>
VII.5.1. EVALUATION DES ACTIVITES ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANTIBACTERIENNE .....	281
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>296</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>301</b>
<b>ANNEXES</b>	
<b>ABSTRACT / RESUME</b>	



# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

A L'origine, la nature est constituée d'êtres végétaux qui permettent d'alimenter les animaux et les hommes, mais à côté de cette fonction nutritionnelle, les plantes sont utilisées aussi pour guérir plusieurs maladies.

Le pouvoir de guérison des plantes médicinales est connu depuis des années reculées ; l'homme, en émergeant sur terre, a dû, au fil du temps, faire le choix des végétaux ; ceux qui nourrissent, ceux qui tuent, et ceux qui soignent. Ce résultat d'une alchimie merveilleuse entre le ciel et la terre a fait des plantes médicinales une véritable pharmacie du bon Dieu.

Ces connaissances accumulées depuis des siècles sont confirmées par les chercheurs du monde entier ; nous connaissons pour certaines plantes les molécules et l'ensemble des principes actifs qui donnent ces effets de guérison, pour d'autres nous constatons leurs actions sur le corps humain.

En Algérie, la flore végétale compte près de 3139 espèces naturelles et près de 5128 espèces exotiques introduites, représentées surtout par des espèces ornementales, plus de 900 d'entre elles sont rares, très rares ou endémiques ; dont certaines n'ont pratiquement jamais fait l'objet d'études phytochimiques poussées et encore moins d'études pharmacologiques.

Cette médecine douce par les plantes ou autrement nommée la médecine traditionnelle ou bien les remèdes de grands-mères devient de moins en moins alternative et de plus en plus indispensable dans le traitement de nombreuses pathologies humaines y compris les pathologies de l'appareil respiratoire.

En effet, les infections bactériennes notamment des voies respiratoires sont considérées comme un problème majeur de santé publique qui mérite un intérêt certain. Ce danger s'est accentué, d'une part par la gravité de ces infections et d'autre part par l'accroissement rapide des résistances bactériennes à un large panel d'antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire ainsi qu'à l'émergence chez certaines populations à risque et dans les hôpitaux de souches bactériennes très virulentes. A signaler que les bactéries pathogènes développent dorénavant des stratégies d'antibio-résistance plus rapidement que la recherche pharmaceutique ne conçoit de nouveaux antibiotiques. La présence ubiquitaire des bactéries multirésistantes, comme les *Staphylococcus aureus*, pose déjà de graves problèmes de santé publique, mis en exergue notamment par

l'explosion du nombre de maladies infectieuses d'origines nosocomiales. Ainsi, la majorité des familles d'antibiotiques ont atteints leurs limites d'activités, et selon l'OMS (organisation mondiale de la santé), certaines molécules de première ligne disponibles pourraient ne plus être efficaces d'ici dix ans (Murray 2022, Prinzi 2022). Promouvoir une utilisation raisonnée de l'arsenal des molécules actuelles, notamment en préservant l'efficacité des antibiotiques de «dernier recours» pour le traitement des infections causées par des bactéries multirésistantes engageant le pronostic vital, est une urgence en l'absence de nouvelles découvertes de molécules plus efficaces.

L'urgence de la situation nous pousse notamment à chercher à aider dans le traitement des infections bactériennes notamment des voies respiratoires autrement qu'avec les antibiotiques classiques.

Dans le traitement des infections respiratoires, les huiles essentielles (HEs) peuvent constituer une option thérapeutique viable. Cette voie de recherche est confortée par les résultats encourageants déjà obtenus par de nombreux essais utilisant des huiles essentielles dans le traitement de ces infections. Dans leur globalité, ces études apportent une nette amélioration

Ainsi l'aromathérapie offre une voie alternative intéressante pour le bien-être respiratoire. L'usage des huiles essentielles (HEs) dans le traitement des infections respiratoires est bien documenté. Utilisées depuis des milliers d'années, les HEs offrent à travers leurs nombreuses propriétés thérapeutiques une alternative sérieuse aux patients se tournant de plus en plus vers des médecines naturelles. Certaines des propriétés bénéfiques, par exemple, antiseptique, anti-inflammatoire et immunostimulante sont soutenues par une pléthore de données scientifiques.

La médecine populaire pratiquée en Algérie dispose d'une grande pharmacopée dont les principaux ingrédients sont des plantes. L'engouement sans précédent envers l'usage de la phytothérapie traditionnelle lors de la pandémie de la Covid 19 surtout en, Algérie a mis en avant un certain nombre de recettes dites « miracles » à base de plantes aromatiques, proposées dans le traitement des infections respiratoires. La plupart des plantes de la pharmacopée traditionnelle Algérienne restent méconnues sur le plan chimique et potentiel biologique [1-7].

Suite à ces constats notre étude déjà amorcée dans le Nord-est Algérien avec le but principal, de valoriser le potentiel de la région en plantes médicinales spécifiquement utilisées dans le traitement des infections de l'appareil respiratoire trouve toute sa place. Pour cela, une démarche

méthodologique en deux étapes a été adoptée : un travail de terrain d'enquêtes ethnopharmacologiques destiné à recenser les savoirs traditionnels sur les plantes utilisées dans le traitement d'infectiologie respiratoire ; suivi d'un travail en laboratoire visant à identifier les principales plantes médicinales aromatiques citées dans le premier volet de notre pratique, caractériser leurs huiles essentielles et évaluer leurs activités biologiques. En perspective, un programme de développement d'une formulation ou bien d'un phytomédicament à visée respiratoire et à base d'huiles essentielles sélectionnées et produites à partir des plantes médicinales cultivées ou récoltées localement sera élaboré.

De telles études se justifient, tant sur le plan médical, par le besoin constant de découverte de nouveaux produits efficaces dans l'amélioration des soins de santé, mais aussi dans le respect de choix du patient pour un traitement complémentaire et alternatif d'origine naturelle.

Les objectifs spécifiques de notre travail de thèse sont triples :

1. Recenser à travers des enquêtes ethnopharmacologiques les plantes les plus communément utilisées dans la région Nord-est Algérien dans le traitement des infections de l'appareil respiratoire ;
2. Procéder à une caractérisation pharmacognosique des plantes sélectionnées et de leurs huiles essentielles ;
3. Évaluer les activités biologiques (analgésique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydante et anti-enzymatique) et cytotoxique des huiles essentielles de plantes médicinales aromatiques étudiées.

# **PREMIERE PARTIE**

## ***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

# **CHAPITRE I**

***APERÇU GENERAL :  
PLANTES MEDICINALES,  
PHYTOTHERAPIE ET  
AROMATHERAPIE***



## I.I. PLANTES MEDICINALES

### I.I.1. DEFINITIONS

#### I.I.1.1. Plantes médicinales

Ce sont toutes les plantes ou les parties de plantes qui contiennent une ou des substances biologiquement actives ayant des propriétés médicinales, pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse médicamenteuse.

La définition de plantes médicinales devrait inclure les cas suivants : la plante ou la partie de plante à usage médicinal dans des préparations galéniques ; les plantes utilisées pour l'extraction de substances pures soit pour usage médicinal direct ou pour hémisynthèses de composés médicinaux ; les aliments ; les épices et les plantes de parfumerie à usage médicinal [8,9].

#### I.I.1.2. Plantes médicinales aromatiques

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, qui contiennent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particulières aux aliments. Les plantes aromatiques fraîches, séchées ou conservées peuvent servir à l'assaisonnement des mets et peuvent également donner naissance à des formes galéniques particulières à partir d'extraits végétaux, tel que les huiles essentielles ou les oléorésines [10].



Figure 1 : Photos de plantes médicinales et aromatiques [11].

### I.I.2. ORIGINE

Un certain nombre de plantes médicinales sont obtenues par cueillette de plantes sauvages et la majorité par culture [12].

### **I.I.2.1. Plantes de cueillette**

Elles sont ; soit des plantes très abondantes à l'état sauvage, soit elles ont une demande réduite ne nécessitant pas la culture, ou elles ont une culture difficile ou impossible [12].

### **I.I.2.2. Plantes de culture**

Dans la majorité des cas, les plantes médicinales sont obtenues par culture. Ce mode de production supprime les risques de confusion et peut être organisé afin d'abaisser les coûts de production. Il permet ainsi l'obtention en quantité voulue de drogue de qualité constante.

De plus, la qualité des plantes cultivées peut être améliorée afin d'augmenter les teneurs en principes actifs et d'augmenter leurs résistances à divers agents (conditions climatiques défavorables, maladies, parasites...etc.).

Pour réaliser cette amélioration on peut jouer sur les facteurs écologiques comme l'influence du lieu de culture et les conditions culturales (le sol, la température, l'humidité, l'insolation) [12].

## **I.I.3. METHODES DE RECHERCHE DES PLANTES MEDICINALES ET SUBSTANCES NATURELLES BIOLOGIQUEMENT ACTIVES**

### **I.I.3.1. A partir des végétaux**

#### ***I.I.3.1.1. Méthode empirique***

Elle se base sur l'utilisation des plantes en médecine populaire (remède de grande mère, drogue utilisée par les guérisseurs).

Elle fait également appel à l'observation de certaines pratiques ancestrales (ex : utilisation des poisons de flèches).

Cette méthode de recherche, qui nécessite des missions d'ethnologues, sociologues, botanistes, chimistes, etc...., est effectuée sous l'égide des gouvernements avec la participation de laboratoires pharmaceutiques [13].

#### ***I.I.3.1.2. Recherche systématique ou méthode de criblage (screening)***

Que l'on désigne par le terme anglo-saxon de « screening »

Toutes les plantes sont essayées et triées en fonction d'un critère défini à l'avance :

- **Critère géographique** : on étudie toutes les plantes d'une région déterminée.
- **Critère botanique** : on passe au crible ; par exemple, une famille botanique (Apocynacées qui contiennent des espèces riches en alcaloïdes à propriétés thérapeutiques intéressantes).

- **Critère chimique** : on récolte, par exemple, toutes les plantes riches en saponosides, sources de matières premières pour la synthèse des corticoïdes...  
Cette méthode, qui nécessite de gros moyens financiers, est réservée à la recherche des plantes dont l'activité s'intègre dans les orientations de certaines thérapies modernes ciblées [13].

#### ***I.I.3.1.3. Méthode inductive***

A partir des données expérimentales, on recherche d'autres drogues par comparaison ou analogie. Ex : la résine de podophylle, utilisée pour le traitement de papillomes, possède également une action purgative drastique ; à partir de ces données, la recherche chez d'autres plantes purgatives drastiques d'éventuelles propriétés anti tumorales, aboutit à l'isolement des cucurbitacines [13].

#### ***I.I.3.1.4. Le hasard***

A côté de toutes ces voies générales de recherche, le rôle de hasard est parfois très important, car sans ce dernier, la découverte de la Pénicilline par Fleming, suite à une pollution par *Penicillium notatum* ; les propriétés anti tumorales de certains alcaloïdes, ou encore, la découverte des anti-leucémiques majeurs du *Catharanthus roseus*, dont les extraits induisaient une chute conséquente du nombre de cellules sanguines de la lignée blanche, lors de tests visant à identifier des substances hypoglycémiantes, ne seraient peut-être pas encore faites [13].

#### **I.I.3.2. A partir d'autres sources**

Les micro-organismes, les champignons et les bactéries (antibiotiques -30% des médicaments-) ; la biotechnologie animale et végétale (préparation d'enzymes et autres protéines à l'état pur -insuline humaine par Colibacille, ...- et les anticorps monoclonaux) [13].

## **I.II. DROGUES VEGETALES**

### **I.II.1. DEFINITION**

Les drogues végétales sont essentiellement des plantes, parties de plantes, algues, champignons et lichens, entiers, fragmentés ou coupés, utilisés en l'état, soit le plus souvent sous forme desséchée, soit à l'état frais. Certains exsudats n'ayant pas subi de traitements spécifiques sont également considérés comme des drogues végétales. Les dernières doivent être définies avec précision par la dénomination scientifique selon le système à deux mots. Elles sont obtenues à partir de plantes cultivées ou sauvages. Des conditions appropriées de collecte, de culture, de récolte, de séchage, de fermentation et de stockage sont essentielles pour garantir leur qualité. Elles sont identifiées souvent par leur description macroscopique, microscopique et parfois même par techniques chromatographiques [14].

La qualité de drogue végétale dépend en grande partie des soins apportés à leur récolte et de la manière dont elles seront conservées [12].

### I.II.2. RECOLTE

Le choix de l'époque de la récolte dépend de la nature de l'organe récolté (de la drogue) et de la variation du taux des principes actifs en fonction de la période de végétation [12].

D'une manière générale, on récolte :

- les fleurs et les sommités fleuries un peu avant leur complet épanouissement ;
- les fruits charnus et secs, à maturité complète ;
- les écorces, soit au moment de la montée de la sève, soit au début de la période de repos ;
- les parties souterraines (racines, rhizomes, bulbes, tubercules...), en dehors de la période de la pleine végétation ;
- les feuilles à des périodes variables [12].

La composition chimique d'une drogue varie souvent avec son cycle végétatif, ses variations peuvent être quantitatives (la teneur de principe actif passe par un maximum et décroît ensuite) ou qualitatives (apparition d'un principe actif et disparition d'un autre au cours du développement) [12].

### I.II.3. CONSERVATION ET STOCKAGE

Les plantes médicinales sont rarement utilisées à l'état frais et doivent donc être conservées dans de bonnes conditions [12].

#### I.II.3.1. Conservation

Un certain nombre de réactions sont à l'origine de l'altération des drogues. Ce sont principalement des réactions d'hydrolyse, d'oxydation, de racémisation, d'isomérisation et de polymérisation, pouvant entraîner une perte d'activité thérapeutique de la drogue [12].

Deux agents principaux sont responsables de l'altération des drogues ; l'eau et les enzymes. Il suffit souvent d'abaisser la teneur en eau des drogues à un taux suffisamment bas pour arrêter les processus d'altération. C'est pourquoi le procédé de conservation le plus utilisé est la dessiccation. Parfois, il est nécessaire de détruire les enzymes contenues dans la drogue, on pratique alors une stabilisation [12].

La dessiccation est un procédé de conservation qui consiste à abaisser la teneur en eau contenue à l'intérieur des drogues végétales à un taux voisin de 10% tel que les réactions d'altérations ne

puissent plus se produire ou ne puissent se produire que très lentement ; la prolifération sur la drogue, de bactéries et de moisissures s'en trouve parallèlement limitée [12].

Différentes techniques sont utilisées :

- le séchage en plein air et au soleil pour les écorces et les racines ;
- le séchage à l'ombre et sous abris, dans des hangars, des greniers et des séchoirs, par exemple : le séchage des fleurs à l'abri de la lumière (trop vive), afin d'éviter une modification de leur aspect, et parfois leur activité (huile essentielle) ;
- le séchage par l'air chaud, qui est la méthode la plus utilisée par les producteurs de plantes médicinales. Ce séchage est effectué dans différents types d'installations industrielles qui permettent d'opérer dans des conditions bien déterminées (température, ventilation...). On utilise des séchoirs à charge discontinue ou à charge continue (à tunnel, à bande, séchoirs « flash ») [12, 14].

La stabilisation est un procédé de conservation qui consiste à détruire irréversiblement toutes les enzymes contenues à l'intérieur des drogues végétales. Les enzymes de nature protéique sont détruites par action de l'alcool et/ou de la chaleur. Les principaux procédés utilisés sont des traitements par la vapeur d'eau sous pression ; par la chaleur sèche à très haute température (séchoirs « flash ») ou par des hyperfréquences (micro-ondes) [12].



Figure 2 : Photos de drogues végétales sèches [15].

### I.II.3.2. Stockage

Les drogues doivent être conservées à l'abri de certains agents pouvant entraîner leurs altérations et protégées contre l'air, l'humidité, la lumière, les champignons (moisissures) et les insectes ; pour cela, elles sont stockées dans des récipients convenables (ex : sacs, caisses, récipients métalliques...), parfois sous gaz inerte. Les plantes séchées se conservent de préférence dans des sacs en papier kraft ou des boîtes en carton, en prenant soin d'y inscrire la date de la récolte et le nom de la plante [12,16].

La durée de conservation des drogues végétales est limitée et adaptée à chaque cas ; normalement, les plantes séchées ne se conservent pas plus d'un an ; les racines et les écorces quant à elles, gardent leurs propriétés pendant deux ans. Sauf cas particulier, il est en pratique souhaitable de renouveler le stock chaque année [12,16].

## I.III. CONTROLES DES PLANTES MEDICINALES ET DROGUES VEGETALES

### I.III.1. CONTROLE BOTANIQUE

L'identité de la matière première initiale (plante ou partie de plante) est indispensable pour la traçabilité et pour éviter les éventuelles fraudes. Grâce à une étude rigoureuse de ses caractères macro- et microscopiques [17].

- **Examen macroscopique et analyse des caractères organoleptique**

Il regroupe l'examen morphologique de la drogue à l'œil nu et à la loupe binoculaire permettant la reconnaissance de la nature de l'organe et la détection des éléments étrangers tels que : la poussière, les moisissures et les falsifications grossières.

Il comprend également la vérification des caractères organoleptique : saveur, astringence, odeur, touché ... [14].

- **Analyse microscopique**

- ✓ **Coupes histologiques (transversales ou longitudinales) :** recherche des éléments histologiques caractéristiques de la drogue analysée.
- ✓ **Poudre :** un autre moyen d'analyse réalisé sur petites quantités de drogue [14].

### I.III.2. CONTROLE PHYSICO-CHIMIQUE

- **Densité relative**

La densité relative est le rapport de la masse d'un volume de liquide par la masse du même volume d'eau. La densité n'a pas d'unité, elle varie avec la température.



On utilise également le terme de masse volumique, représentée par  $\rho_{20}$ , qui est le rapport de la masse d'un volume de liquide à 20 °C par la masse du même volume d'eau à 20 °C [17].

➤ **Indice de réfraction**

La réfraction est le changement de direction subi par un rayon lumineux lorsqu'il passe d'un milieu optique donné (par exemple l'air) à un autre milieu (par exemple un liquide constitué par une huile essentielle) [17].

➤ **Pouvoir rotatoire**

Le pouvoir rotatoire est caractéristique des molécules énantiomères qui ont les mêmes propriétés chimiques, mais des propriétés physiques qui peuvent être différentes. Le pouvoir rotatoire ne permet pas l'identification rigoureuse d'une huile essentielle, mais permet seulement de confirmer la conformité par rapport aux normes établies [17].

➤ **Indice d'acide**

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes (mg) de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres dans 1,00 gramme (g) d'huile essentielle. Quelques fois, il sera nécessaire de déterminer l'indice d'ester et/ou l'indice de saponification [17].

Une huile essentielle peut contenir un ester, et parfois l'acide correspondant qui se forme au cours des phénomènes de vieillissement et d'hydrolyse de l'ester [17].

➤ **Indice de peroxyde**

La mauvaise conservation d'une huile essentielle, en présence d'air et à température élevée, entraîne le vieillissement en induisant la formation de peroxydes. Les peroxydes sont toxiques et instables à la chaleur. L'indice de peroxyde est le nombre qui exprime, en milliéquivalents d'oxygène actif, la quantité de peroxyde contenue dans 1,00 g de substance [17].

➤ **Dosage de l'eau**

La recherche de l'eau dans les huiles essentielles peut se faire par le test avec le sulfure de carbone. Cependant, un dosage précis, surtout dans les plantes, peut être réalisé par différentes méthodes : gravimétrie, entraînement azéotropique, des méthodes spectrométriques ou par le réactif iodo-sulfureux ou méthode de Karl Fisher [17].

➤ **Résidu d'évaporation**

Une prise d'essai d'huile essentielle est placée dans une capsule anti grimpante, sur un bain-marie à ébullition, durant un temps déterminé. Après refroidissement dans un dessiccateur, le résidu est pesé exactement [17].

➤ **Contrôles chromatographiques**

✓ **La chromatographie sur couche mince (CCM)**

Dans l'étude des huiles essentielles, elle servira d'abord à caractériser grossièrement une huile essentielle par la présence de quelques constituants caractéristiques majoritaires. L'application principale de la CCM est d'identifier les constituants d'un mélange. Pour cela, on détermine, après migration et révélation, les distances mesurées, respectivement, entre la ligne des dépôts et le milieu de la tache (d1), puis entre la ligne des dépôts et le front de solvant après migration (d2). On détermine le facteur de rétention (Rf) par la relation :  $Rf = d1/d2$  [17].

Rf : facteur de rétention ; il varie avec la température .Pour la séparation des constituants du mélange, le Rf devrait être compris entre 0,2 et 0,8 [17].

✓ **La chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

Le détecteur recommandé par la pharmacopée est celui à ionisation de flamme (FID). Au préalable, tous les étalons potentiellement présents dans les huiles essentielles sont injectés en CPG afin de déterminer leur temps de rétention (Tr) et de constituer une banque de données [17].

Actuellement, la spectrométrie de masse (SM) est de plus en plus utilisée en couplage avec la CPG. L'identification se fait grâce à la comparaison du spectre de masse du pic chromatographique inconnu à ceux des étalons injectés dans les mêmes conditions [17].

✓ **La chromatographie liquide haute performance (CLHP)**

C'est le développement moderne de la chromatographie d'élution sur colonne à pression atmosphérique. Le phénomène de partage interviendra dans le cas des huiles essentielles et des extraits végétaux. Cette technique peut être simple, rapide et éventuellement sélective [17].

### I.III.3. CONTROLE BIOLOGIQUE

Le contrôle biologique est une série d'essais complémentaires aux contrôles physicochimiques et botaniques. Il est exigé souvent lorsque les principes actifs ne sont pas encore identifiés. Son but principal est de déterminer leurs propriétés pharmacologiques ainsi que leurs toxicités [13].

### I.III.4. NORMALISATION ET STANDARDISATION DES PLANTES MEDICINALES ET DROGUES VEGETALES

Pour établir une normalisation des critères d'une drogue végétale .Il faut d'abord choisir une espèce végétale qui a subi un contrôle des caractères morphologiques et anatomiques, de propriétés physico-chimiques et pharmacologiques en tenant compte de son intérêt commercial et thérapeutique [13].



Les normes et les essais des plantes les plus importantes sont inscrites dans des recueils appelés pharmacopées : la pharmacopée française IX<sup>ème</sup> édition, la pharmacopée européenne, les pharmacopées nationales, et les divers organismes de standardisation : L'AFNOR (Association Française de normalisation) ou ISO (International Standardisation Organisation) [13].

## I.IV. TERMINOLOGIE

### I.IV.1. PREPARATIONS A BASE DE DROGUES VEGETALES

Les produits d'origine végétale utilisés à des fins thérapeutiques sont définis comme des drogues végétales ou des préparations à base de drogues végétales. L'origine végétale du produit doit être définie avec précision par la dénomination scientifique botanique selon les règles linnéennes (genre, espèce, variété, auteur) [14].

Les préparations à base de drogues végétales sont obtenues en soumettant les drogues à des traitements comme l'extraction, la distillation, l'expression, le fractionnement, la purification, la concentration ou la fermentation. Ce sont notamment des teintures, des extraits, des huiles essentielles, des huiles grasses, certains jus végétaux et certaines poudres. Les composants isolés, chimiquement définis ou leur mélange, ne sont pas considérés comme des préparations à base de drogues végétales. Des substances, telles que des solvants, des diluants, des conservateurs peuvent entrer dans la composition des préparations à base de drogues végétales ; la présence de ces substances doit être indiquée [14].

### I.IV.2. TOTUM

Le terme « *Totum* » désigne l'ensemble de constituants de la plante supposée actifs. L'emploi de ce *Totum* est basé sur le fait qu'il doit exister une synergie d'activités pharmacologiques entre plusieurs constituants [18].

Selon d'autres notions de « *Totum* », les plantes séchées représentent le « totum » de la plante, elles sont à l'origine de la préparation des teintures officinales, des extraits, des nébulisés, mais aussi tout simplement des poudres ; leur recul d'utilisation dépend évidemment de l'espèce végétale considérée ; ainsi, les poudres de feuilles ou de sommités fleuries d'aubépine ne furent employées que récemment, et l'observation clinique ancestrale avait préalablement sélectionné d'autres formes d'extractions, comme l'infusion ...[14].

### I.IV.3. MATIERES PREMIERES

L'expression « Matière première végétale » désigne la plante entière ou la partie de plante destinée à entrer dans la fabrication d'une préparation de plante ; incluant aussi les cultures de cellules, n'ayant pas encore subi de traitement spécifique [19].

#### I.IV.4. PRINCIPES ACTIFS

C'est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Le principe actif est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale [20].

#### I.IV.5. CONSTITUANTS A EFFETS THERAPEUTIQUES

Le plus souvent, ce sont des matières premières pour l'extraction industrielle de substances naturelles pures, destinées dans la grande majorité des cas à des indications thérapeutiques majeures [14].

#### I.IV.6. MEDICAMENTS A BASE DE PLANTES

Le médicament à base de plantes (MABP) est un complexe de molécules, pouvant être préparé à partir d'une ou de plusieurs espèces végétales ; sa présentation moderne sous des formes galéniques de plus en plus innovantes rend l'infusion originelle bien éloignée et souvent démodée [14].

Les MABPs répondent à la définition de l'article L. 5111-1 du Code de la Santé Publique (CSP), et relèvent donc de la réglementation générale du médicament , à savoir : "On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques".

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit le MABP comme tout médicament étiqueté, dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes ou une association d'une ou de plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes.

Ils sont notamment considérés comme des médicaments les produits diététiques qui renferment dans leur composition des substances chimiques ou biologiques ne constituant pas elles-mêmes des aliments, mais dont la présence confère à ces produits, soit des propriétés spéciales recherchées en thérapeutique diététique, soit des propriétés de repas d'épreuve. Les produits utilisés pour la désinfection des locaux et pour la prothèse dentaire ne sont pas considérés comme des médicaments [21].



Figure 3 : Photos d'échantillons de médicaments à base de plantes [22] [23] [24].

## I.V. PHYTOTHÉRAPIE ET AROMATHÉRAPIE

### I.V.1. DEFINITIONS

#### I.V.1.1. Phytothérapie

La phytothérapie (du grec : phyton = plante et thérapia = soin) est une discipline allopathique implique l'utilisation de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes à des doses thérapeutiques, pour prévenir certains troubles fonctionnels et traiter certains symptômes pathologiques. Elle est similaire à la médecine conventionnelle car elle comprend les principaux éléments de la médecine traditionnelle (ethnomédecine) et moderne mais ce n'est ni une thérapeutique « spéciale », ni une médecine « alternative », car elle fait partie intégrante de la thérapeutique [9 ,14].



Figure 4 : Aspect de la Phytothérapie (De la plante au médicament) [25].

### **I.V.1.2. Aromathérapie**

L'aromathérapie (du grec : arôma = arôme, et thérapia = soin) est une thérapeutique naturelle fait partie de la phytothérapie, utilisant les huiles essentielles et les extraits, provenant de plantes dites « aromatiques », par voie interne ou externe, pour améliorer l'humeur et l'état de santé d'une personne et peut être appliquée en combinaison avec d'autres formes de traitements complémentaires alternatifs. Elle est préventive et curative et utilisée par les fabricants de produits de soins personnels, de bien-être et d'hygiène, ainsi que par les praticiens, y compris les massothérapeutes, les chiropraticiens, les infirmiers et les médecins [6, 9, 14].

- **Huile essentielle**

Une huile essentielle est une « substance odorante, généralement de composition complexe, obtenue à partir d'une matière première botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Elle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [26].

Les huiles essentielles souvent dénommées « essences », sont localisées dans un appareil sécréteur particulier (cellules à essence, canaux sécréteurs, poches schizogènes ou schizolysigènes, poils sécréteurs...), présent aussi bien dans les fleurs, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Leur composition est variable en fonction de la partie concernée de la plante, mais aussi selon l'origine géographique des végétaux utilisés [14, 26].

Les huiles essentielles ne sont pas des produits naturels sources de bienfaits et toujours bien tolérés. Elles peuvent induire des manifestations toxiques et allergiques [26].

## **I.V.2. ETHNOBOTANIQUE ET ETHNOPHARMACOLOGIE**

### **I.V.2.1. Ethnobotanique**

L'éthnobotanique est une discipline interprétative et associative qui recherche, utilise, lie et interprète les faits d'interrelation entre les sociétés humaines et les plantes en vue de comprendre et d'expliquer la naissance et le progrès des civilisations, depuis leurs début végétaliens jusqu'à l'utilisation et la transformation des végétaux eux-mêmes dans les sociétés primitives ou évoluées. Elle est l'une des deux branches d'ethnobiologie, l'autre étant l'ethnozoologie [27].

### **I.V.2.2. Ethnopharmacologie**

L'ethnopharmacologie est une discipline qui s'intéresse aux médecines traditionnelles et aux remèdes constituant les pharmacopées traditionnelles. Très schématiquement, un programme d'ethnopharmacologie mis en œuvre dans une région particulière se déroule en trois temps : Un

travail de terrain destiné à recenser les savoirs thérapeutiques ; un travail de laboratoire visant à évaluer l'efficacité thérapeutique des remèdes traditionnels et un programme de développement de médicaments traditionnels préparés avec des plantes cultivées ou récoltées localement.

Les objectifs sont clairement énoncés et codifiés par des méthodologies rigoureuses : Recenser partout dans le monde les savoirs traditionnels, notamment là où la tradition est orale, car la transmission de la connaissance est entravée à la fois par la perte d'intérêt du métier de guérisseur et par la non reconnaissance du métier, voire son interdiction pour exercice illégal de la médecine.

Les études ethnopharmacologiques guidées par les usages empiriques des plantes, ont apporté à l'humanité plus de 60 % de ses médicaments quotidiens. Située à la croisée des sciences de l'homme et de la nature, l'ethnopharmacologie a su développer des méthodologies originales, alliant tradition et modernité qui lui ouvrent des perspectives prometteuses [27,28].

# **CHAPITRE II**

***SUBSTANCES NATURELLES***

***BIOACTIVES DES PLANTES***

***MEDICINALES ET HUILES***

***ESSENTIELLES***

## II.I. APERÇU SUR LES CONSTITUANTS NATURELS BIOACTIFS

### II.I.1. COMPOSES PHENOLIQUES

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. Ce sont des dérivés non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issu du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate [29].

#### II.I.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, au sens strict, sont des pigments jaunes, généralement polyphénoliques, très répandus chez les végétaux, ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides ou flavonosides dont les génines sont des dérivés de la phénylchromone (flavone vraie) [30].

#### II.I.1.2. Tanins

Ce sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines [29].

#### II.I.1.3. Quinones

Les quinones sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques et qui sont caractérisés par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5- diénique (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5- diénique (ortho-quinones). Les quinones naturelles ont leur dione conjuguée aux doubles liaisons d'un noyau benzénique (benzoquinones) ou à celles d'un système aromatique polycyclique condensé (naphtoquinones, anthraquinones, naphtodianthrones) [29].

#### ❖*Anthraquinones*

Ce sont des composés phénoliques, hétérosidiques, dérivés de l'anthracène et de degré de l'oxydation est très variable (anthrones, anthranols, anthraquinones). Quel que soit leur degré d'oxydation, ces molécules ont en commun une double hydroxylation en C-1 et C-8 [29].

### II.I.2. COMPOSES AZOTES (LES ALCALOÏDES)

Les alcaloïdes, initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte. Les alcaloïdes ont une structure complexe ; leur atome d'azote est incluse dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative [29].

### II.I.3. STEROÏDES ET TRITERPENES

Les terpénoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux.

Tous les terpènes et les stéroïdes, peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène (unités isopréniques) [29].

## II.II. LES HUILES ESSENTIELLES (HEs)

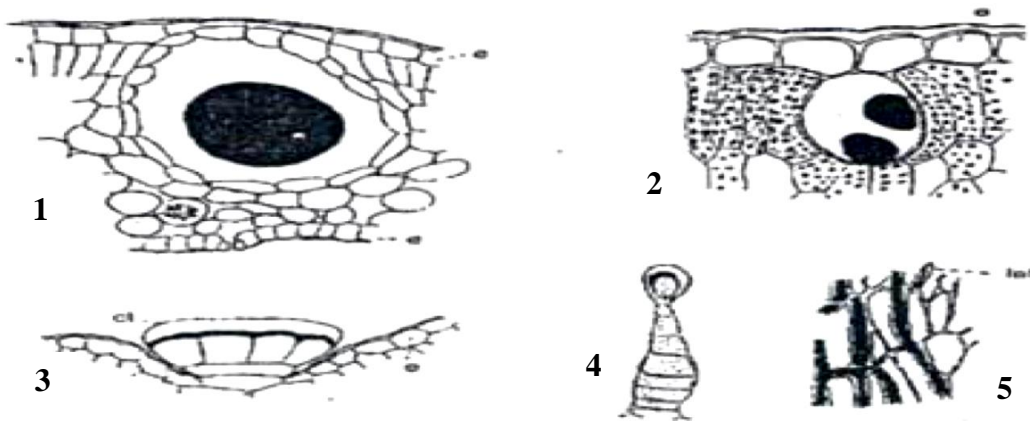
### II.II.1. DEFINITION DES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles, communément appelées « essences » sont des mélanges de composés aromatiques des plantes qui sont extraites par distillation à la vapeur d'eau ou par des solvants. La norme AFNOR NTF 75-006- 5 février 1998, a donné la définition suivante d'une huile essentielle : « *Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche* ». L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ; pour les deux premiers modes d'obtention, elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [31-34].

### II.II.2. REPARTITION BOTANIQUE ET LOCALISATION

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal avec des familles à haute teneur en matières odorantes comme les conifères, les rutacées, les myrtacées, les ombellifères, les lamiacées, les géraniacées, etc. Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (cas des lauracées et magnoliacées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs spécialement différenciés et variables suivant les familles botaniques ; on peut citer, par exemple, les poils sécréteurs des lamiacées, les poches sécrétrices des rutacées et les canaux sécréteurs des conifères. L'appareil sécréteur peut être externe, comme dans un bon nombre de lamiacées, ou bien interne, comme c'est le cas pour les différents eucalyptus (myrtacées)[35, 36].





1 : Poche sécrétrice dans une feuille d'*Eucalyptus globulus* (Myrtacées). 2 : Cellule isolée située sous l'épiderme de *Saassafra officinale* (Lauracées). 3 : Poil de menthe poivrée (*Menthe piperita*, Lamiacées) ; l'essence (en noir) s'accumule sous la cuticule très épaisse. 4 : Poil de patchouli (*Pogostemon*, lamiacées). 5 : Laticifères dans la racine de Salsifis (Asteracées).

**Figure 5 : Localisations histologiques des huiles essentielles dans les plantes**  
[Guignard, 1996].

Les huiles essentielles s'accumulent dans tous les types d'organes végétatifs ; fleurs (bergamote), feuilles (menthe, eucalyptus), écorces (cannelle), bois (bois de santal), racines (vétiver), rhizomes (gingembre), fruits (anis) et graines (Noix de muscade). Les huiles essentielles sont généralement associées à un stockage spécialisé dans les plantes.

Bien que les huiles essentielles soient composées de plusieurs types de molécules, dont les principales sont des monoterpènes. La synthèse et l'accumulation d'huiles essentielles sont souvent liées à la présence de structures histologiquement spécialisées et sont situés sur ou à proximité de la surface du végétal, des trichomes glandulaires, des cavités sécrétoires ou des canaux sécréteurs des plantes [34, 37].

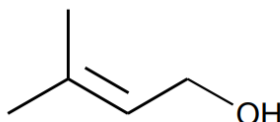
### II.II.3. COMPOSITION CHIMIQUE ET ORIGINE BIOSYNTHETIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

#### II.II.3.1. Généralités structurales

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle, qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes, ce sont : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phényl propane [38].

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte.

La formule brute des terpènes est  $[(C_5H_8)_n]$  ; n peut prendre les valeurs (1 à 8) sauf dans les polyterpènes ou il peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La formule de base est l'isoprène  $C_5H_8$  et le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques [alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone...].



**Figure 6: Isoprène [2-méthyl buta-1,3-diène]**

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires [avec les flavonoïdes et les alcaloïdes]. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène, on a ainsi :

- |                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| - Hemiterpènes                  | C5  |
| - Monoterpènes                  | C10 |
| - Sesquiterpènes                | C15 |
| - Diterpènes                    | C20 |
| - Sesterpènes                   | C25 |
| - Triterpènes                   | C30 |
| - Tétraterpènes et polyterpènes | C40 |

#### • Hemiterpènes C5

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule de C5 ramifiée ; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme Hemiterpènes, seul l'isoprène qui présente toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes.

#### • Monoterpènes C10

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes, dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène ( $C_5H_8$ ), selon le mode de

couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales [39].

### II.II.3.2. Facteurs de variabilités des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité au niveau de leur composition ainsi que sur le plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être différentes. Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque ; liés aux conditions de croissance et de développement de la plante [40, 41].

#### Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toute dénomination trompeuse du matériel. L'influence du stade végétatif, l'organe de la plante, les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie et le polymorphisme chimique sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles [39,40,42,43,44].

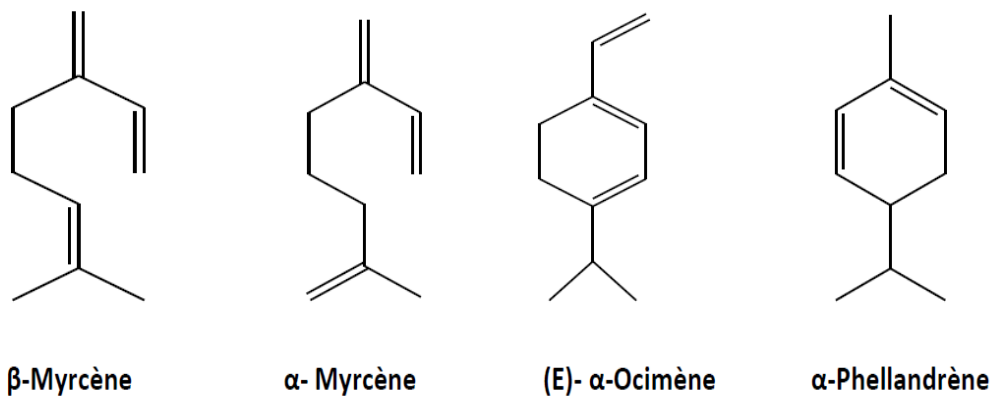


Figure 7: Structure de quelques monoterpènes

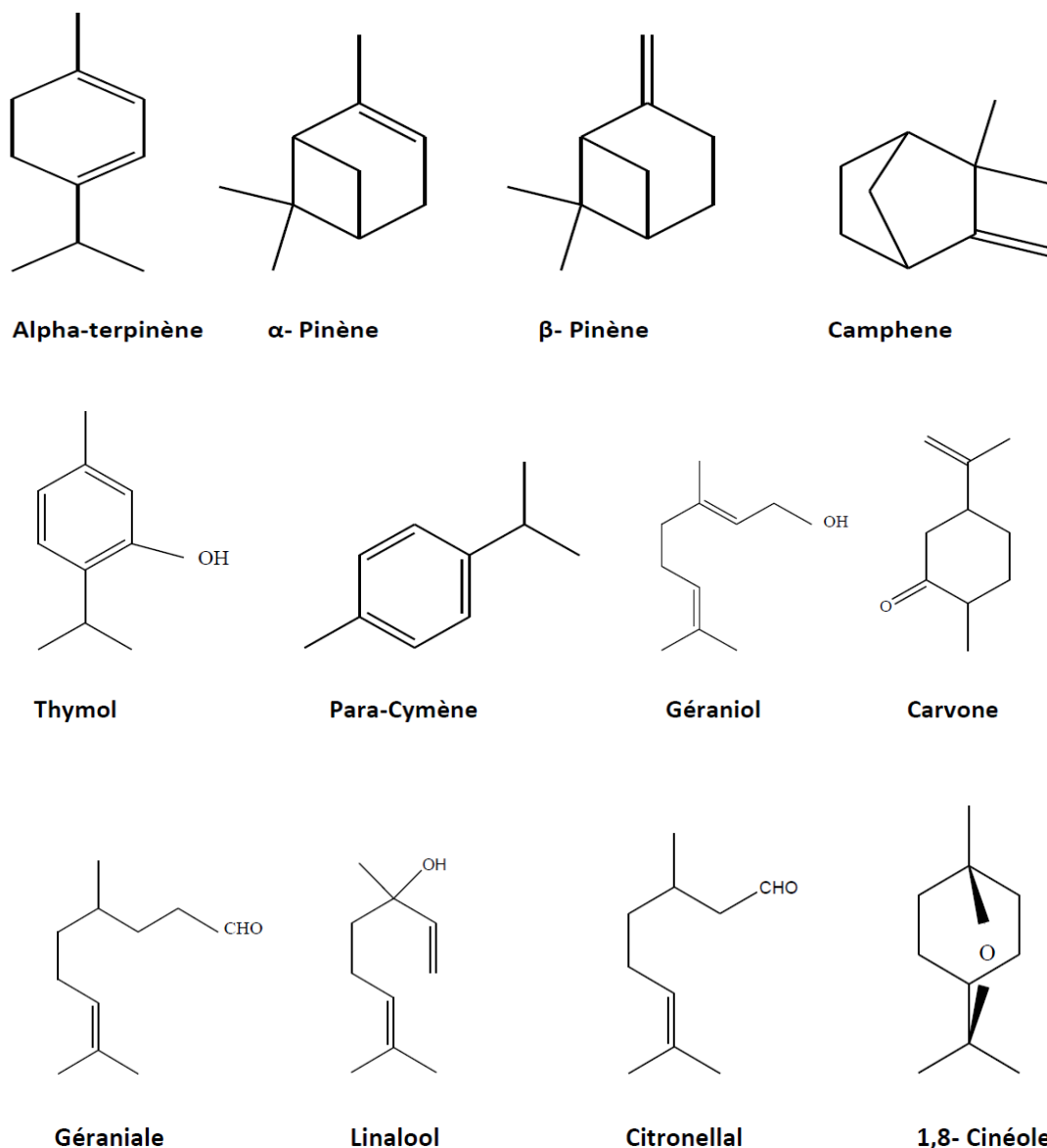


Figure 8 : Diversité structurale des monoterpènes

- **Sesquiterpènes C<sub>15</sub>**

Ils représentent la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurales : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques.

- **Diterpènes C<sub>20</sub>**

Il existe environ 2700 diterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme cyclique. Parmi les diterpènes linéaires, on rencontre la famille Phytane dont le phytol est le représentant le plus connu dans la chlorophylle ou dans les vitamines K et E. Les diterpènes cycliques sont des

dérivés de cyclophytane. Le rétinol et le rétinol, deux formes de la vitamine A sont les plus connus dans cette famille.

- **Triterpènes C<sub>30</sub>**

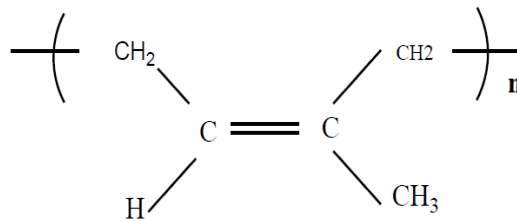
Il existe plus de 1700 Triterpènes dans la nature, dont la majorité est sous forme tétra cyclique ou penta cyclique. La forme acyclique étant très rare. Le squalène (triterpène acyclique) est le précurseur des autres triterpènes et aussi des stéroïdes végétaux. La plupart des triterpènes sont des alcools sous forme libre, ou glycosides (les saponines) ou esters. Les triterpènes libres sont des composants principaux des résines ou du latex des végétaux.

- **Tétraterpènes C<sub>40</sub>**

Les caroténoïdes sont des Tétraterpènes, les plus typiques étant les apocaroténoïdes et les diapocaroténoïdes.

- **Polyterpènes**

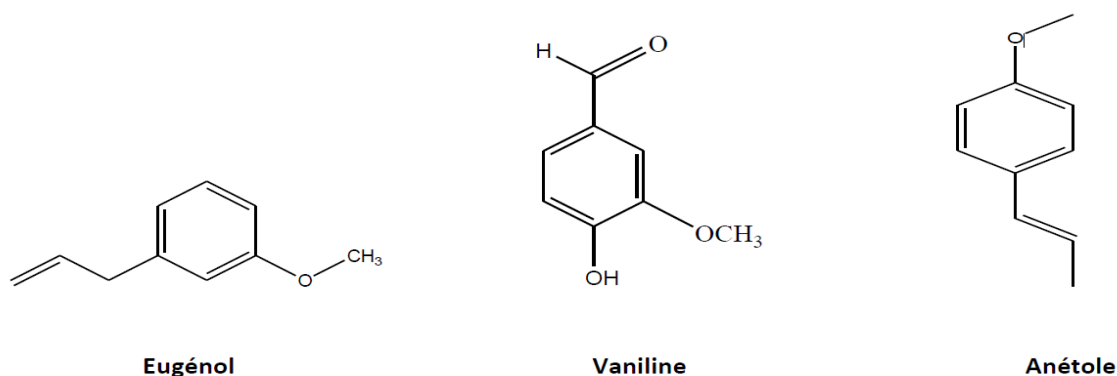
Ils se composent en général de plus de huit unités d'isoprène ; ils se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis et trans. Le cis poly-isoprène se trouve dans le caoutchouc indien, alors que le trans poly-isoprène est la partie principale de gutta-percha. Les vitamines K1 et K2 et la vitamine E sont des polyterpènes comptant plus de 10 unités d'isoprène.



**Figure 9 : Structure d'un polyterpène (caoutchouc naturel)**

- **Composés aromatiques**

Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane sont moins fréquents, mais néanmoins très importants : eugénol, anéthol, vaniline... etc.



**Figure 10 : Structures de quelques composés aromatiques**

Ces composés aromatiques constituent un ensemble important, car ils sont généralement responsables des caractères olfactifs et organoleptiques des huiles essentielles : par exemple, l'eugénol est responsable de l'odeur du clou de girofle [45].

- **Composés d'origines diverses**

Ce sont des produits résultants de la transformation de molécules non volatiles. Ces composés contribuent aux arômes de fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les huiles essentielles, lorsqu'elles sont entraînaibles par la vapeur d'eau [40].

Il est important de signaler que parmi les HE, on peut rencontrer des huiles que l'on pourrait qualifier de simples (riches en un composé prépondérant) ; de complexes (ne possédant aucun composé prépondérant) et tous les intermédiaires sont possibles. L'un des exemples typiques d'une huile simple est celui de l'huile de girofle qui contient au moins 80% d'eugénol et de petites quantités d'autres produits. Le cas extrême de complexité peut être illustré par l'huile de vétiver (*Vetiveria zizanoides*) qui contient une centaine de composants [46].

### **Facteurs extrinsèques**

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles. La température, la lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent des causes potentielles de la variation de la composition chimique d'une plante aromatique donnée. L'origine géographique, les conditions de culture telles que : la date de récolte, l'emploi d'engrais, et les

techniques de récolte influencent aussi la composition et le rendement des huiles essentielles [40, 42, 47, 48, 49].

L'instabilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation, soit le plus souvent différente de celle du mélange présent dans le végétal. Pendant l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters, des isomérisations, des oxydations, etc.[50].

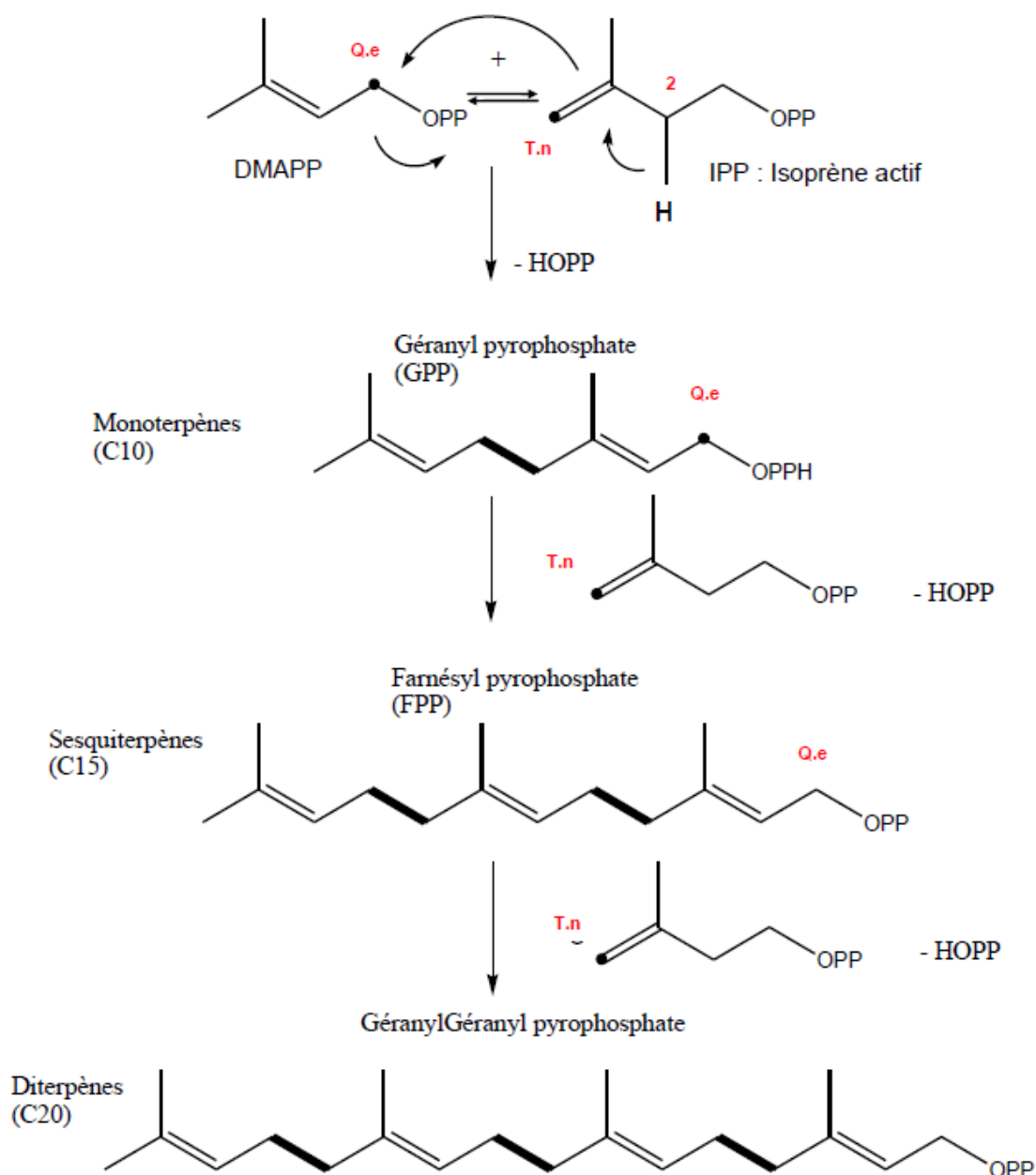
La méthode d'extraction, et l'état du matériel végétal ; ainsi que le stockage du végétal avant distillation influent aussi sur la composition et le rendement des huiles [40, 41, 51, 52].

### II.II.3.3. Biosynthèse

Les précurseurs des principales classes des terpènes, formés par des réactions enzymocatalysées, sont des esters pyrophosphoriques d'alcools en  $(C_5)_n$ , issus de l'addition séquentielle d'une unité en  $C_5$ , le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) ou isoprène actif: -géranylpyrophosphate (GPP), précurseur des monoterpènes à  $C_{10}$  ; farnésylpyrophosphate (FPP), précurseur des sesquiterpènes à  $C_{15}$ ; géranylgéranylpyrophosphate (GGPP), précurseur des diterpènes à  $C_{20}$ .

Le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) constitue l'unité isoprénique d'enchaînement, il s'isomérisé en pyrophosphate de diméthyl-allyle (DMAPP) par l'isopentényl diphosphate  $\Delta$ -isomérase. Le pyrophosphate de diméthylallyle formé se condense avec une nouvelle molécule d'IPP. Le mécanisme a été élucidé par Croteau.

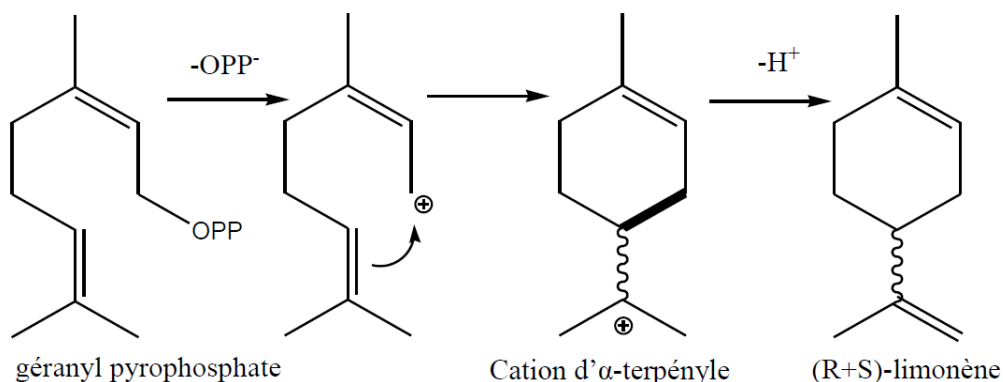
La réaction du couplage est catalysée par une GPP synthase, implique le centre nucléophile du méthylène de l'isopenténylpyrophosphate (tête) et le centre électrophile du groupement allylique  $CH_2$  du DMAPP (queue). Cette réaction de couplage «tête à queue» donnera naissance au géranylpyrophosphate (GPP) à  $C_{10}$ . Nous décrivons les étapes de la réaction : -En premier, la réaction d'ionisation du pyrophosphate d'allyle implique le départ du groupe pyrophosphate. Ensuite, la réaction de carbocation donne naissance à l'ion carbonium allylique qui est attaqué par les électrons de la double liaison du pyrophosphate d'isopentényle ; la condensation s'accompagne de l'élimination d'un proton sur le  $C_2$  de l'IPP. Cette réaction donne naissance au géranyle de pyrophosphate. Une addition similaire d'IPP sur le pyrophosphate de géranyle (GPP) conduit au farnésyle de pyrophosphate (FPP) à  $C_{15}$ , puis au géranylgéranyle de pyrophosphate (GGPP) à  $C_{20}$ . Ces différents composés sont à l'origine des monoterpènes, sesquiterpènes, et diterpènes [53,54].



**Figure 11 : Schéma de biosynthèse des processeurs des terpènes**  
T.n : tête nucléophile, Q.e : Queue électrophile

La synthèse des terpènes cycliques et polycycliques fait intervenir les ions intermédiaires carbonium. Dans le cas des monoterpènes monocycliques comme l'exemple du limonène, qui implique la formation de l'ion carbonium intermédiaire d' $\alpha$ -terpényle après le départ du groupement pyrophosphate. En premier, le cationallylique se cyclise en un cation cyclohexyl. Ensuite, cette réaction s'achève par la perte de proton donnant soit le (R)- ou le (S)- limonène.





**Figure 12 : Mécanisme réactionnel de la synthèse du limonène [55].**

Les sesquiterpènes : le FPP, précurseur de toute la série, résulte de l'addition d'une molécule de pyrophosphate d'isopentényle (IPP) sur le pyrophosphate de géranyle (GPP). La formation de l'ion carbonium se fait par dissociation de l'anion pyrophosphate, du farnésylpyrophosphate (FPP). La réaction de cyclisation de l'ion carbénium d'ionisation «non classique», permet la formation des sesquiterpènes monocycliques. L'allongement de la chaîne du FPP, accroît le nombre de cyclisations possibles, et explique la très grande diversité de ces composés.

Certains composés aromatiques sont des dérivés des propénylphénols. Ils sont beaucoup moins fréquemment rencontrés que les terpènes mais sont souvent caractéristiques de certaines huiles essentielles de la famille des Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc.). Ces composés peuvent présenter diverses fonctions chimiques : aldéhydes (cinnamaldéhyde), alcools (alcool cinnamique), phénols (chavicol, eugénol), oxydes (anéthole, élémicine, estragole, méthyleugénol, etc) ou bien des hétérocycles oxygénés (apiole, myristicine, safrole) [56].

#### II.II.4. NOTION DE CHEMOTYPE

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce ; ces variétés chimiques sont communément appelées, chémotype. Le mot chémotype est dérivé de chimiotype ou chimiovariété. Cette variation peut se présenter d'un peuplement à l'autre ou d'un individu à l'autre ; elle peut être due à des facteurs exogènes comme : l'ensoleillement, la nature des composants du sol, la température et l'altitude, et au facteur endogène : la composition génétique des individus. Par exemple le basilic cultivé en pleine lumière à Madagascar a un taux de chavicol de 57 %, alors que la même plante cultivée à l'abri de la lumière en contient 74 %.

Cette variabilité peut être influencée également par la situation géographique, l'*Eucalyptus globulus* récolté au Brésil possède un taux de cinéole de 83,9 %, alors que la même plante récoltée en Algérie a un taux de 48,6 % [57-59].

#### II.II.5. CARACTERES PHYSIQUES

- Liquides à température ambiante.
- Volatiles (caractère odorant).
- Très rarement colorées (sauf azulènes de couleur bleue foncée : dans HE de la camomille bleue).
- De densité généralement inférieure à celle de l'eau (celles de sassafras, de girofle et de cannelle constituent des exceptions).
- D'indice de réfraction élevé et la plupart dérivent la lumière polarisée.
- Solubilité :
  - Liposolubles ; solubles également dans la plupart des solvants organiques.
  - Entraînés à la vapeur d'eau, très peu solubles dans l'eau,
  - Solubles dans l'alcool de titres élevés (différence avec les lipides).
- Altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Tendance à se polymériser et donner lieu à des produits résineux (conservation limitée à un an).

#### II.II.6. PROCÉDES D'EXTRACTION

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (environ 1%) ; ce qui les rend fragiles, précieuses et rares. Il existe différentes méthodes pour les extraire ; le choix de la méthode la plus adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire et de l'usage d'extrait et d'arôme du départ au cours de l'extraction [60].

##### II.II.6.1. Hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau

###### II.II.6.1.1. Hydrodistillation

Méthode la plus anciennement utilisée ; on immerge la matière végétale dans un ballon rempli d'eau placé sur une source de chaleur. On porte à ébullition, les vapeurs chargées de molécules odorantes sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par

différence de densité. Le système généralement utilisé pour l'extraction est le Clevenger. La durée d'une hydrodistillation peut atteindre plusieurs heures selon le matériel végétal utilisé.



**Figure 13 : Montage d'extraction d'HE par hydrodistillation type « Clevenger »**  
<https://www.phytochemia.com> (consulté en 2019).

#### *II.II.6.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau*

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles ; elle ne met pas en contact direct le végétal et l'eau. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située sur une grille. Le mélange huile essentielle-eau est véhiculé vers le condensateur et l'essencier, ensuite il est séparé en eau et huile. L'absence de contact entre l'eau et le végétal évite les phénomènes de dégradation.

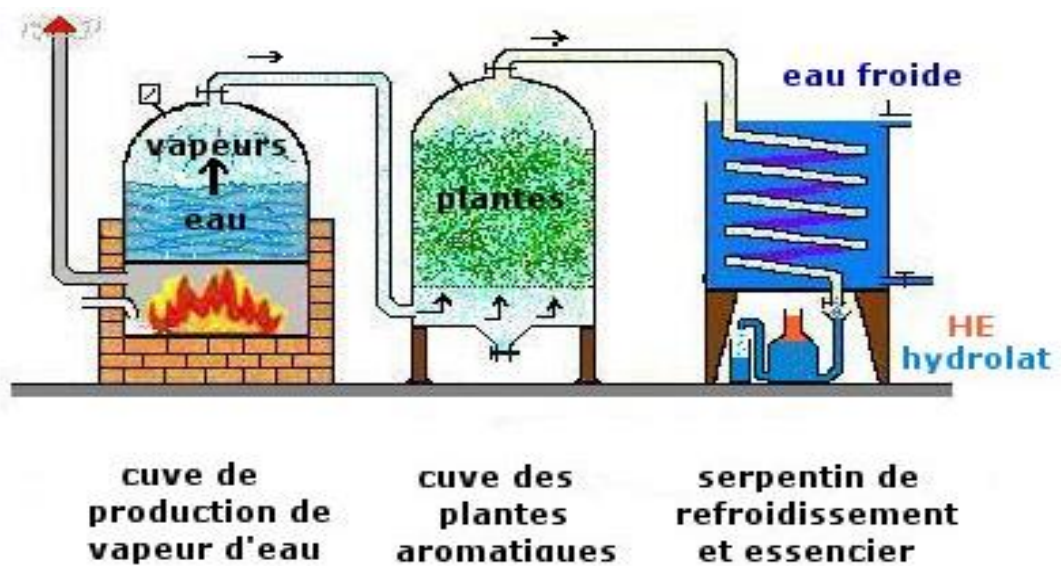


Figure 14 : Montage d'extraction d'HE par entraînement à la vapeur d'eau  
[www.inconscients.com](http://www.inconscients.com) (consulté en 2019).

### II.II.6.2. Extraction par expression

Elle est réservée aux écorces d'agrumes, et elle consiste à briser mécaniquement les cellules sécrétrices pour récupérer les précieux liquides. Ce procédé réalisé à température ambiante, consiste à dilacérer (procéder à de multiples petites coupures) les zestes du fruit. Le contenu des poches sécrétrices est rompu puis récupéré en exerçant une action abrasive en présence d'eau sur toute la surface du fruit. Une fois les déchets solides éliminés, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse dans une centrifugeuse puis filtrée.

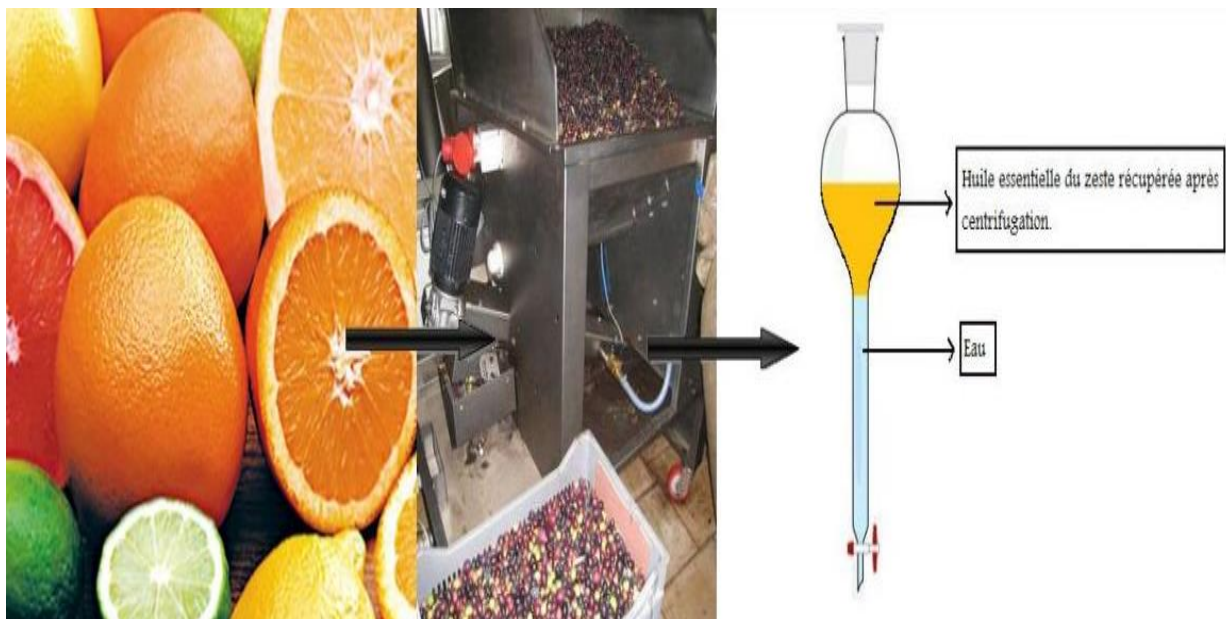


Figure 15 : Schéma de l'extraction d'HE par expression à froid  
<http://lessentieldehuilesessentielles.e-monsite.com> (consulté en 2019).

### II.II.6.3. Extraction assistée par micro-ondes

Elle a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. La technique consiste à irradier par micro-ondes le végétal broyé en présence du méthanol, solvant qui absorbe fortement les micro-ondes ce qui permet l'extraction des composés polaires ou bien en présence de l'hexane qui n'absorbe pas les micro-ondes ce qui permet l'extraction des composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. Cette méthode permet d'obtenir de bons rendements d'extrait, et de réduire considérablement la durée de la distillation [61].

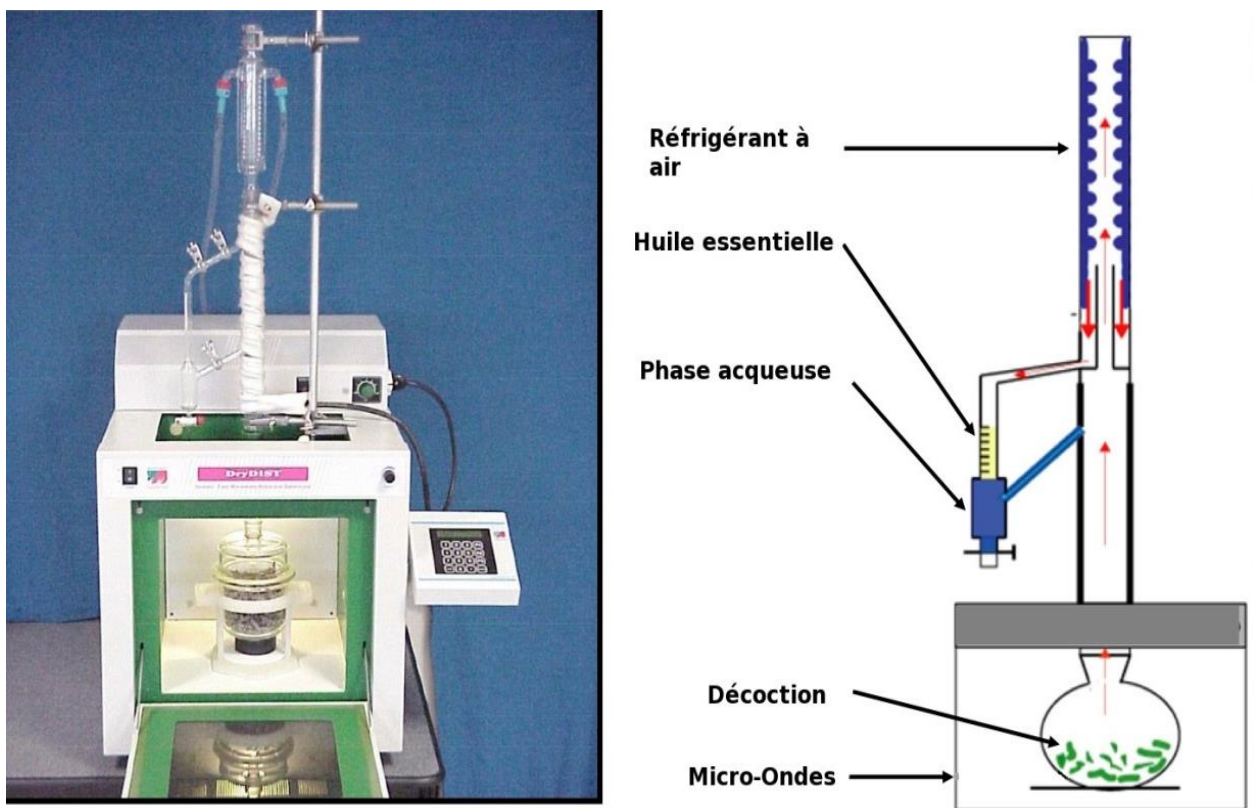


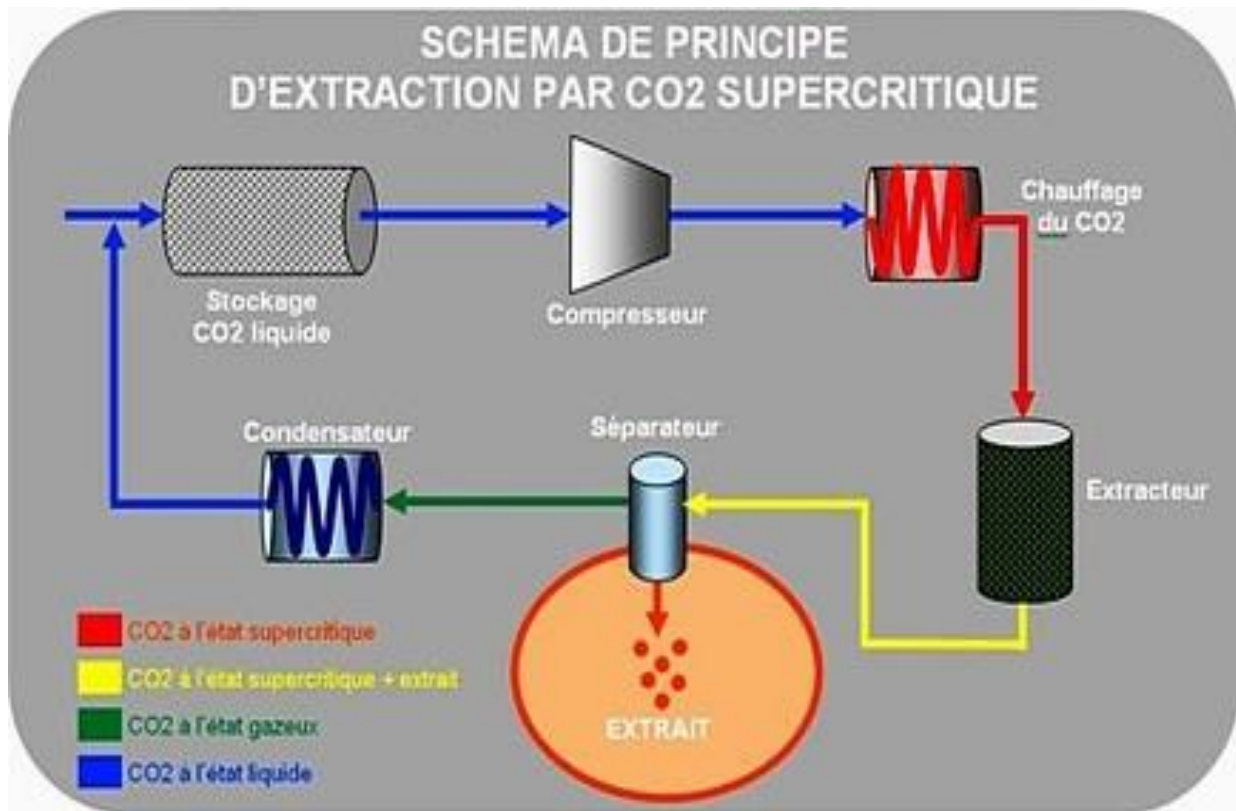
Figure 16 : Montage d'extraction d'HE assistée par micro-ondes  
[Source : Boutayeb, 2013].

### II.II.6.4. Extraction par le gaz supercritique

Elle est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état liquide supercritique. Le  $\text{CO}_2$  permet l'extraction dans le domaine liquide et la séparation dans le domaine gazeux. Le  $\text{CO}_2$  est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, il est ensuite injecté dans l'extracteur qui contient le végétal puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant. L'avantage de cette méthode est de recycler le solvant, et les températures basses ne sont



pas agressives pour les constituants les plus fragiles. Cette technique est utilisée pour les essences difficiles à distiller [62].



**Figure 17 : Montage d'extraction d'HE par le CO<sub>2</sub> supercritique**  
<http://tpelesplanhttp> <http://tpe-huile-essentielle.e-monsite.com> (consulté en 2019).

#### II.II.6.5. Extraction assistée par ultrasons

L'action des Ultrasons dans les milieux liquides repose sur le phénomène de cavitation, création, croissance et implosion de bulles formées lorsqu'un liquide est soumis à une onde de pression. Il en résulte un choc de pression au voisinage de la bulle et la formation d'un micro créateur thermochimique à l'intérieur de la bulle.

Dans le but d'améliorer le rendement d'extraction des huiles essentielles et la faible consommation d'énergie ; l'extraction assistée par ultrasons a mis au point pour améliorer l'efficacité et réduire le temps d'extraction. L'effondrement des bulles de cavitation générée pendant l'extraction conduit à la destruction des glandes d'huiles essentielles d'une manière à faciliter la libération de cette huile végétale.

En plus de l'amélioration du rendement, les huiles essentielles obtenus par l'extraction assistée par ultrasons ont montré moins de dégradation thermique avec une haute qualité [63].

### II.II.6.6. Extraction par solvants volatils

Elle consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et le végétal. Grâce à des lavages successifs, le solvant se charge en molécules aromatiques, il sera alors envoyé au concentrateur pour être distillé à pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés sont : l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits contiennent des composés volatils ainsi que des cires, des pigments, des acides gras et d'autres composés. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lichens-Nickerson [64, 65].

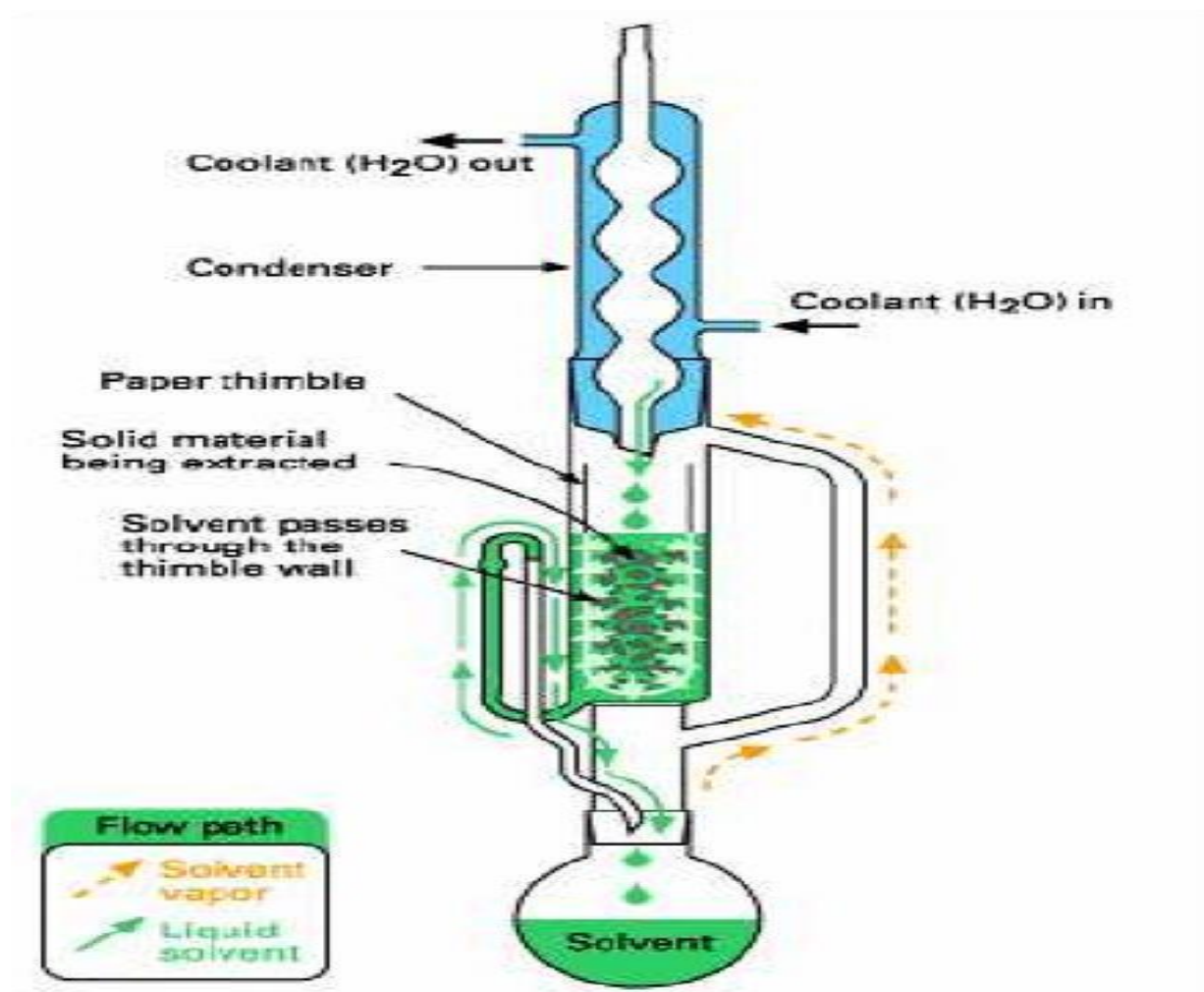


Figure 18 : Extracteur de type Soxhlet et Lichens-Nickerson  
[Source : Boutayeb, 2013].

## II.II.7. ANALYSES ET CONTROLES

### II.II.7.1. Paramètres physicochimiques

Selon la pharmacopée Française et Européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais. Ce contrôle a pour but de définir les caractéristiques physico-chimiques de l'huile

essentielle ; ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité. Les méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques sont décrites dans le recueil de normes publié par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1996), qui sont identiques aux normes internationales de l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO, 1977).

La normalisation des huiles essentielles concerne :

- Les propriétés organoleptiques : couleur, aspect, odeur...
- Les caractéristiques physicochimiques : densité, indice d'acide, miscibilité dans l'éthanol...
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents constituants.

#### **II.II.7.2. Détermination de la composition des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM)**

Cette analyse concerne l'identification qualitative et quantitative des différents constituants des huiles essentielles. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la méthode de référence dans leurs analyses, elle repose sur le principe de migration différentielle des constituants d'un mélange à travers une phase stationnaire et une phase mobile gazeuse, elle est utilisée pour l'analyse quantitative. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse CPG/SM est utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative [66, 67].

- ***Principe du couplage CPG/SM***

L'échantillon est introduit dans le spectromètre de masse par la CPG sur colonne capillaire, ainsi cette colonne est directement couplée à la source d'ions permettant l'ionisation des constituants. Deux types d'ionisation : l'ionisation chimique (IC) et l'ionisation par impact électronique (IE), cette dernière est la plus utilisée car elle permet l'étude systématique de la structure des ions moléculaires et des fragments formés.

Le principe de la CPG/SM repose sur la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ). A la sortie de la colonne, les molécules arrivent au niveau de la source d'ionisation, elles entrent en collision avec un flux d'électrons. Ces électrons leur arrachent un autre électron, formant ainsi des cations radicalaires ( $M^+$ ). Ces ions peuvent à leur tour se fragmenter et donner d'autres ions, on aura ainsi dans la chambre d'ionisation un ensemble d'ions dont le plus léger est  $H^+$  et le plus lourd est  $M^+$ . Ces cations entrent dans l'analyseur ou ils sont séparés en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ).



A la sortie, ils sont accélérés et déviés pour entrer en collision avec le channeltron (dynode) ou ils sont convertis en dizaines d'électrons de plus faible énergie. Ces électrons sont multipliés tout au long du channeltron, le cation qui arrive va générer quelques dizaines d'électrons qui génèrent une amplification allant jusqu'à 108.

L'ordinateur enregistre les données et les convertit en valeurs de masses, d'intensités de pics et en courant ionique total. Les spectres de masses ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux de produits de références contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles [NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Wiley Registry of Mass Spectral Data, Adams] [68].

#### II.II.8. FONCTIONS PHYSIOLOGIQUES ET PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

La diversité moléculaire des huiles essentielles leur confère des propriétés biologiques très variées. Les huiles essentielles possèdent un large spectre biologique, à titre d'exemple, des activités anti-inflammatoires, spasmolytiques, et antioxydantes. Par ailleurs, ces produits exercent également des effets immunomodulants et expectorants.

Durant les dix dernières années, les propriétés biologiques des huiles essentielles ont été confirmées dans de nombreux travaux. Aborjan et Buchbauer, ont contribué à la connaissance de cet aspect pour le développement des thérapeutiques, en réalisant une importante synthèse bibliographique sur les activités biologiques des huiles essentielles (2007, 2008, 2009). L'utilisation de certaines huiles essentielles a été démontrée dans le traitement des infections microbiennes, des inflammations, et du cancer. Par ailleurs, les activités antioxydantes ont été décrites [69, 70, 71].

##### II.II.8.1. Rôle dans la plante

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure, toutefois ils ont un rôle écologique établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales comme agents allélopathiques, notamment inhibiteurs de germination ; que dans celui des interactions végétales-animales comme agents de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Il est indiqué que les vapeurs des huiles essentielles d'Eucalyptus se trouvant à la surface des feuilles réduisent la perte de l'eau et interviennent également par leurs odeurs caractéristiques dans l'attraction de pollinisateurs [72, 73].

### II.II.8.2. Propriétés antimicrobiennes

Les huiles essentielles sont principalement utilisées en médecine traditionnelle, pour leurs propriétés antimicrobiennes. L'exploration des huiles essentielles pour la recherche de molécules à activité antimicrobienne semble donc être une voie intéressante. Tegos et *al.*, définissent qu'un produit naturel a une activité « antimicrobienne » lorsqu'il inhibe la croissance des microorganismes pour des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 100 µg/ml et 1000 µg/ml. Ces concentrations exercées sont plus élevées que celle des antibiotiques, avec des CMI (s), variant de 0,01 µg/ml à 10 µg/ml.

Le potentiel antimicrobien des huiles essentielles a été abondamment décrit dans de nombreuses études. Plus de 500 travaux ont été recensés durant les années 1987-2001 sur les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles. Par la suite, Aborjan et Buchbauer, se sont intéressés aux travaux publiés de l'année 2008 à septembre 2010.

Différentes techniques ont été décrites pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne (diffusion, dilution et bioautographie). Kalemba et Kunicka, ont décrit les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne, ainsi que les différents facteurs influençant celle-ci. Des variations de l'inhibition de la croissance des microorganismes ont été observées en fonction de la méthode utilisée ; des conditions de culture suivis, et de la solubilité des agents de dispersion des huiles essentielles dans le milieu nutritif.

Griffin et *al.*, ont mis en évidence les facteurs moléculaires influençant l'activité antimicrobienne. Il a été démontré que cette activité est corrélée avec la solubilité en milieu aqueux et la présence de liaisons hydrogènes. De ce fait, le groupe des composés hydrocarbonés et des acétates caractérisés par une faible solubilité en milieu aqueux étaient inactifs, tandis que les composés oxygénés ont montré une meilleure activité avec différents degrés d'inhibition de la croissance des microorganismes.

Il convient de souligner que la taille des molécules joue un rôle déterminant dans l'inhibition de la croissance des bactéries Gram négatives, les molécules de petite taille passent plus facilement à travers la membrane via les porines. En outre, la stéréochimie des molécules impliquées, influence l'activité antimicrobienne. Il a ainsi été montré que les isomères  $\alpha$  et  $\beta$  des terpènes et que la présence de fonctions oxygénées (groupement hydroxyle des composés phénoliques, groupement acétate, fonction aldéhyde conjuguée avec une double liaison carbone-carbone...) accroît les propriétés antimicrobiennes des terpénoïdes [74-80].

### II.II.8.2.1. Mécanisme d'action

Si l'avènement de l'antibiothérapie a permis de lutter contre un certain nombre de maladies infectieuses, l'utilisation des antibiotiques s'est accompagnée de l'émergence de bactéries résistantes. Les bactéries ont développé différentes stratégies pour s'affranchir de l'action létale des antibiotiques qui s'appuient sur trois types de mécanismes de résistance :

- Modification de la cible des antibiotiques : la modification de la cible d'un antibiotique est un mécanisme commun de résistance. Elle est la conséquence d'une mutation spontanée au niveau d'un gène bactérien ou de l'acquisition d'un gène de résistance.
- Production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques : les réactions enzymatiques conduisant à l'inactivation des antibiotiques peuvent être effectuées par hydrolyse, transfert des groupements chimiques ou oxydo-réduction (bêta-lactamases, aminosides-phosphotransférases, aminosides-adényltransférases, aminosides-acétyltransférases).
- Diminution de la concentration intracellulaire en antibiotiques : par modification de la perméabilité de la paroi bactérienne. Ce mécanisme réduit la vitesse de diffusion des antibiotiques et/ou leur expulsion de manière active vers le milieu extracellulaire via des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux [80-82].

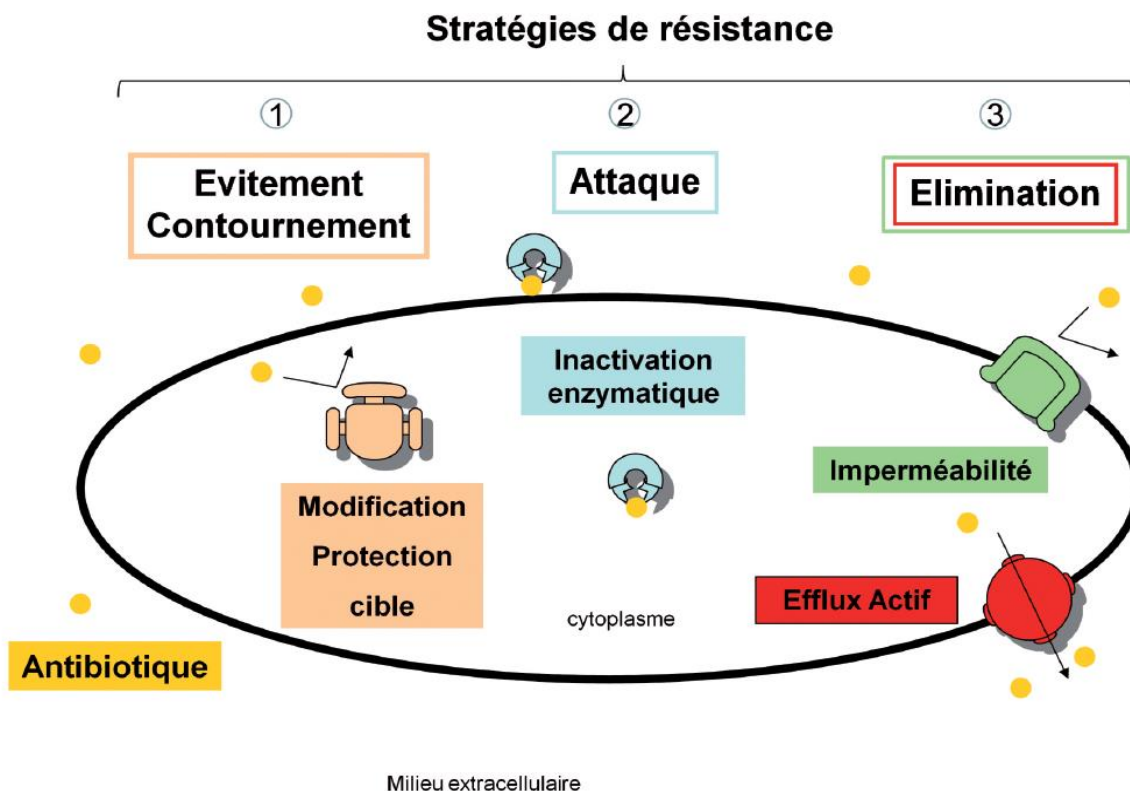


Figure 19 : Mécanismes de résistances bactériennes vis-à-vis des antibiotiques [83].

A l'opposé, les huiles essentielles semblent ne pas avoir des cibles cellulaires spécifiques, du fait de leur grand nombre de constituants. La première mise en évidence de l'action antibactérienne des huiles essentielles a été réalisée par Delacroix en 1881. Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives sont moins sensibles et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire. La paroi des bactéries Gram positives est presque exclusivement constituée de peptidoglycane. Alors que celle des bactéries Gram négatives est plus complexe. Le peptidoglycane, réduit à une fine couche, est entouré par deux membranes. La membrane interne comporte majoritairement des phospholipides, alors que la membrane externe est caractérisée par la présence d'un lipopolysaccharide LPS. Le LPS confère à la paroi cellulaire un caractère hydrophile qui rend la membrane externe des bactéries Gram négatives imperméables à la plupart des constituants hydrophobes des huiles essentielles. Les huiles essentielles peuvent altérer directement la membrane cellulaire des bactéries Gram positives, induisant la rupture de celle-ci, le blocage enzymatique et la perturbation de la perméabilité membranaire.

L'activité antimicrobienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires. A titre d'exemple, les composés hydrocarbonés, provoquent une augmentation de la perméabilité membranaire, modifiant le gradient de protons, par expulsion des protons vers le milieu extracellulaire qui provoque la chute de la synthèse de l'ATP. Carson a démontré que l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* Cheel. (Myrtaceae) serait capable de modifier la perméabilité de la membrane plasmique de *Staphylococcus aureus*, entraînant une perte des ions potassium. L'observation au microscope électronique de l'action du terpinène-4-ol sur les cellules bactériennes, a montré la formation de structures mésosomes. Ces invaginations membranaires sont également formées après traitement à la vancomycine [84-89].

#### **II.II.8.2.2. Activités antibactériennes**

L'émergence de la résistance à la méticilline au sein de l'espèce *Staphylococcus aureus* (SARM) a été suivie par une rapide dissémination à travers le monde.

Les SARM représentent un problème majeur de santé publique. Cette mise au point aborde l'évolution de l'incidence, les facteurs de risque de colonisation à SARM et le développement des résistances bactériennes ont encouragé l'intérêt des recherches actuelles porté sur le potentiel antibactérien des huiles essentielles. Tohidpour et al. Ont rapporté l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae), *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) sur les

SARM avec des concentrations minimales inhibitrices estimées à 18,5 µg/ml et 85,6 µg/ml, respectivement.

Kirmizibekmez et *al.*, ont montré la sensibilité des staphylocoques dorés SARM vis-à-vis de l'action de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. (CMI= 31,2 µg/ml).

En parallèle, les bactéries résistantes à Gram négatives *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été décrites sensibles à l'action de l'huile essentielle d' *Helichrysum italicum* (Asteraceae). Lorenzi et *al.*, ont décrit le mécanisme réactionnel de synergie de l'huile essentielle d' *Helichrysum italicum* avec le chloramphénicol sur les bactéries à Gram négatives *Enterobacter aerogenes* EAEP289 présentant une expression en pompes à efflux membranaires. La concentration minimale inhibitrice diminue d'un facteur huit et passe de 1024 µg/ml à 128 µg/ml. Il a été démontré que cet effet synergique est du à l'inhibition de la pompe à efflux, lié principalement à l'action du géranioïl avec l'antibiotique testé avec une CMI estimée à 0,07 µg/ml [90-93].

#### **II.II.8.2.3. Activités antifongiques**

Les champignons, organismes saprophytes, se classent généralement en deux catégories : les levures et les champignons filamenteux. Les infections fongiques chez l'homme, sont décrites sous le nom de mycoses. Celles-ci peuvent être de plusieurs types : superficielles (peau, cheveux, ongles), sous cutanées ou systémiques.

Les mycoses superficielles sont le plus souvent causées par des champignons filamenteux, dits dermatophytes, incluant *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*.

Les levures du genre *Candida* sont également responsables d'un grand nombre de mycoses superficielles, le pathogène le plus répandu étant *C. albicans*. Les mycoses sous-cutanées sont dues à une contamination du derme et des tissus sous-cutanés par des pathogènes généralement originaires de l'environnement extérieur (sol, plantes...).

Les mycoses systémiques opportunistes touchent plus particulièrement les patients gravement malades (VIH en particulier) ou immunodéprimés. Elles sont en particulier causées par les levures du genre *Candida* ; *C. albicans* est l'espèce majoritairement à l'origine de ces infections, mais aussi sont également rencontrés *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* et dans une moindre mesure *C. krusei*. D'autres infections systémiques peuvent par exemple être causées par des levures (*Cryptococcus sp.*, *Trichosporon sp.*) ou des champignons filamenteux (*Aspergillus sp.*).

L'augmentation de la prévalence des infections fongiques, couplée à une résistance accrue aux antifongiques et à des problèmes de toxicité rencontrés sur le long terme avec les traitements actuels, rend donc nécessaire la recherche de nouveaux traitements des mycoses.

Les différentes études sur l'effet des huiles essentielles sur les dermatophytes montrent qu'ils n'existent pas de groupe chimique particulier responsable de celle-ci. Cependant, il semblerait que les phénylpropanoïdes (ex, estragole, eugéno) et les alcools sesquiterpéniques représentés par l' $\alpha$ - bisabolol présentent des propriétés antifongiques intéressantes [93-104].

### II.II.8.3. Activité anticancéreuse

Les huiles essentielles et leurs constituants volatils font l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux. L'huile essentielle d'ail est une bonne source de composés sulfurés reconnus pour leur effet préventif contre le cancer. Le diallyl sulfide, diallyl disulfide et le diallyl trisulfide en sont des exemples. Ils existent d'autres composés volatils qui ont montré une activité cytotoxique contre diverses lignées cellulaires cancéreuses (gliomes, cancer du côlon, du poumon, du foie, du sein, etc.). A titre d'exemple, le géraniol diminue la résistance des cellules cancéreuses du côlon (TC118) envers le 5-fluorouracil, un agent anticancéreux. De ce fait, le géraniol potentialise l'effet inhibiteur du 5- fluorouracil vis à vis de la croissance tumorale.

L'huile essentielle de sapin baumier et un de ses composés, l' $\alpha$ -humulène, ont montré une activité anticancéreuse significative sur plusieurs lignées cellulaires ainsi qu'une faible toxicité envers les cellules saines. L'activité anticancéreuse du d-limonène, le composé principal des huiles essentielles de *Citrus* a été mise en évidence au niveau du cancer de l'estomac et du foie. Un dernier exemple est l' $\alpha$ -bisabolol présent en grande majorité dans l'huile essentielle de camomille. Certaines études ont mis en évidence l'activité cytotoxique de quelques huiles essentielles. A titre d'exemple : *Comptonia peregrina* L., *Myrica gale* L., *Melaleuca alernifolia*, *Croton flavens* L. et *Artemisia annua* L.. Cependant, les huiles essentielles ne sont pas toujours inoffensives. Certaines huiles essentielles utilisées dans l'industrie des cosmétiques et des parfums peuvent être irritantes et allergisantes [105-116].

### II.II.8.4. Potentiels anti-inflammatoires

L'effet anti-inflammatoire des huiles essentielles est dû à leur capacité à se lier avec les radicaux libres, ou bien aux interactions des signaux de la cascade biochimique incluant les cytokines, les facteurs de transcription, et les gènes d'expression pro-inflammatoire. Cependant, le mécanisme d'action anti-inflammatoire reste plus ou moins incertain.

L'effet anti-inflammatoire a été démontré aussi bien pour les composés purs isolés, que pour les mélanges complexes. À titre d'exemple, l'effet anti-inflammatoire de l' $\alpha$ -bisabolol, trouvé dans l'huile essentielle de *Vanillosmopsis erythropappa* et *Matricaria chamomilla* L. est liée essentiellement à sa capacité de protection de la muqueuse gastrique. D'autres sesquiterpènes ont été rapportés comme de puissants agents anti-inflammatoires :  $\beta$ -caryophyllène et  $\alpha$ -humulène. Un exemple des phénols monoterpéniques : le carvacrol dans l'huile essentielle commerciale de thym, joue un rôle important dans l'inhibition du processus inflammatoire.

Plusieurs études ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* et de son composé principal l' $\alpha$ -terpinéol. L'activité anti-inflammatoire de plusieurs huiles essentielles a été également évaluée in vivo, à titre d'exemple l'*Eremanthus erythropappus* (Asteraceae), *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), *Garcinia brasiliensis* Mart. (Clusiaceae) [117-123].

#### II.II.8.5. Propriétés anti-oxydantes

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. En effet, les polyphénols sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; utilisés également comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [124-127].

#### II.II.9. TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES

La nature végétale des huiles essentielles les font souvent considérées à tort, comme des produits inoffensifs or, si les huiles essentielles sont naturelles, elles ne sont pas dénuées de toxicité. Pour certaines, la dose létale est même très basse ou alors les effets secondaires sont très importants. La dose létale de *Corymbia citriodora* DL<sub>50</sub> est supérieure à 2,48 g/Kg chez le rat. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses ; ce sont les huiles essentielles de : cannelle de Ceylan, menthe, clou de girofle, basilic exotique et thym à thymol. Certaines sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol et en carvacrol), et allergènes (huiles riches en cinnamaldéhyde). Chez les enfants, certaines huiles essentielles sont interdites, notamment les

huiles riches en aldéhydes aromatiques : dermocaustiques et allergisantes ; riches en cétones : neurotoxiques, et riches en terpènes : fortes et agressives.

L'administration de 10g d'eucalyptol peut entraîner la mort, et plusieurs cas d'effets indésirables graves sont survenus à la suite d'une utilisation de produits cosmétiques à base de 1,8-cinéole ; de camphre et de menthol chez des enfants de 2 mois et demi à 4 ans. Il est donc impératif que les huiles essentielles ne soient pas à la portée de tout le monde, qu'elles soient utilisées avec précaution et que ne devraient être délivrées en vente libre que celles qui sont particulièrement diluées pour éviter tout accident [128-131].

#### II.II.10. CONSERVATION DES HUILES ESSENTIELLES

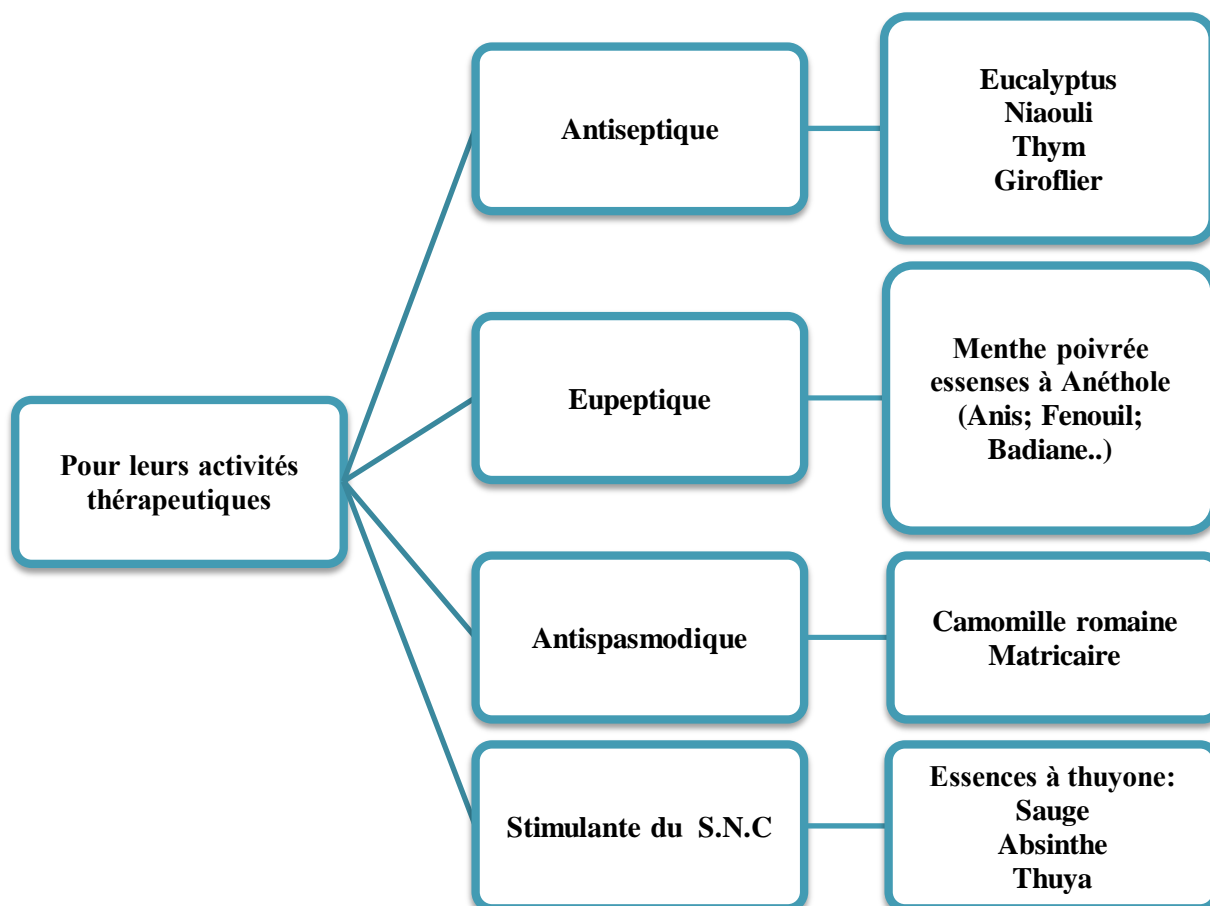
L'instabilité relative des molécules qui composent les huiles essentielles, rend leur conservation délicate. Trois facteurs interviennent dans leur altération : **La température** : obligation de stockage à basse température (entre 8°C et 25°C). **La lumière** : les stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque brun de préférence. **L'oxygène** : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants. La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans [132].



II.II.11. EMPLOIS PHARMACEUTIQUES ET EXTRA-PHARMACEUTIQUES DES  
HUILES ESSENTIELLES

## II.II.11.1. En pharmacie

## II.II.11.1.1. Pour leurs activités thérapeutiques



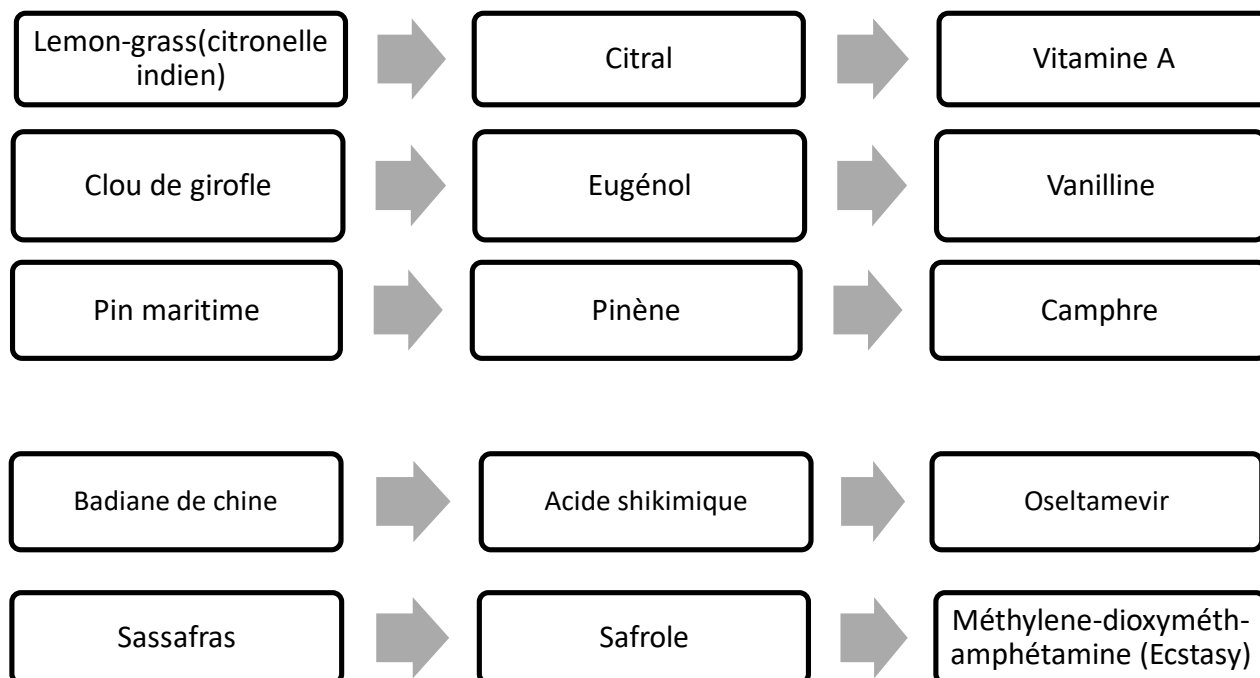
## II.II.11.1.2. Comme excipients

Les huiles essentielles sont utilisées en pharmacie comme excipients pour l'aromatization et le parfumage de certaines formes pharmaceutiques.

- ❖ Pour l'aromatization des formes orales ; on utilise surtout les essences d'anis, de badiane, de menthe, d'orange, de citron,...
- ❖ Pour le parfumage des préparations dermopharmaceutiques ; ce sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle...

**II.II.11.1.3. Chimie d'hémi synthèse**

Les composés présents dans les huiles essentielles constituent le point de départ pour la synthèse d'autres composés pour l'industrie pharmaceutique, chimique et de parfumerie :

**II.II.11.2. Parfumerie**

C'est le débouché principal des huiles essentielles, des concrètes, des absolues et autres résinoïdes.

La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit à privilégier pour les formulations des produits de grande diffusion, et des produits synthétiques.

A la limite de la pharmacie et des produits d'hygiène, on notera la présence des huiles essentielles dans les préparations pour bains (bains calmants ou relaxants) : possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques. On cite comme exemples :

- Essences de Citrus : (péricarpe frais)
- Citronniers : *C. lemon* L.
- Orangers : *C. aurantium* L.
- Lavande : *Lavandula angustifolia* P. Miller et *L. latifolia* (L. f.) Medikus Lamiaceae
- Thym : *Thymus vulgaris* L. Lamiaceae
- Romarin : *Rosmarinus officinalis* L. Lamiaceae
- Ylang-ylang : *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thomson

## II.II.12. MARCHE MONDIAL DES HUILES ESSENTIELLES

Ces dernières années, le marché mondial des huiles essentielles est en nette évolution. Quelque 3000 huiles essentielles sont connues, dont environ 300 sont d'une importance commerciale. Les quantités d'huiles essentielles produites dans le monde sont très variables. La production annuelle de certaines huiles essentielles est de 35.000 tonnes, alors que celle d'autres essences peut atteindre juste quelques kilogrammes. Les principaux importateurs et exportateurs en volume et en valeur sont la Chine, Hong Kong et les États-Unis. La Chine domine le marché des exportations avec près de 33% du marché mondial que ce soit en volume ou en valeur (période 2004-2014). Les États-Unis sont les premiers importateurs mondiaux avec plus de 10% du marché mondial des importations en volume ou en valeur durant la même période. De nouveaux pays émergent sur ces marchés. Ainsi, l'Égypte connaît une expansion rapide des exportations en volume et en valeur durant la moyenne des deux périodes considérées 1994-2003 et 2004-2014 avec un taux croissant annuel de 8% jusqu'à 2014. En valeur, l'Égypte prend la sixième position sur le marché mondial des exportations au cours de la période 2004-2014, en passant de 2% à 6% du marché mondial. Un autre pays tiers méditerranéen, le Maroc, gagne également des parts du marché mondial des exportations atteignant 2,5% du marché en 2014. En Algérie, en dépit de la richesse floristique et tenant compte des importations croissantes d'huiles essentielles et d'extraits de plante, il apparaît que la filière des huiles essentielles est peu développée malgré les fortes potentialités, ce qui explique que notre pays reste absent de la scène internationale des échanges de plantes aromatiques et médicinales [133-136].

# **CHAPITRE III**

## ***ANATOMIE, PHYSIOLOGIE ET INFECTIOLOGIE DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE***

### III.I. RAPPEL ANATOMIQUE

#### III.I.1. DEFINITION DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE

C'est l'ensemble des organes d'un être vivant qui assure la respiration ou les échanges gazeuses entre l'organisme et l'environnement. Il est constitué de deux voies : les voies respiratoires supérieures et les voies respiratoires inférieures [137].

#### III.I.2. VOIES RESPIRATOIRES SUPERIEURES

➤ **Cavité nasale et bouche**

La cavité nasale et la bouche représentent la partie la plus supérieure des voies aériennes, elle est constituée de deux cavités aériennes allongés d'avant en arrière (elle s'ouvre en avant par les narines et en arrière sur le rhino-pharynx). Les fosses nasales sont creusées dans le massif facial entre la cavité buccale en bas et la base du crane en haut, les orbites en dehors et le pharynx en arrière, et elles s'étendent de l'orifice piriforme en avant aux choanes en arrière [138, 139].

➤ **Pharynx**

Il comprend trois segments ; rhinopharynx, oropharynx et laryngo-pharynx. Chaque segment dispose respectivement d'un orifice vers la cavité nasale, vers la cavité buccale et vers le larynx.

Le pharynx est en communication :

- en avant avec la bouche.
- en haut avec le nez.
- en arrière du rachis cervical.
- en dessous, devant le larynx et derrière l'œsophage [140, 141].

➤ **Larynx**

Le larynx est un organe impair, médian qui s'étend entre le bord inférieur de l'os hyoïde et le bord supérieur du premier anneau trachéal. Il est situé après le pharynx au niveau de la séparation entre les voies aériennes et digestives. [142, 143].

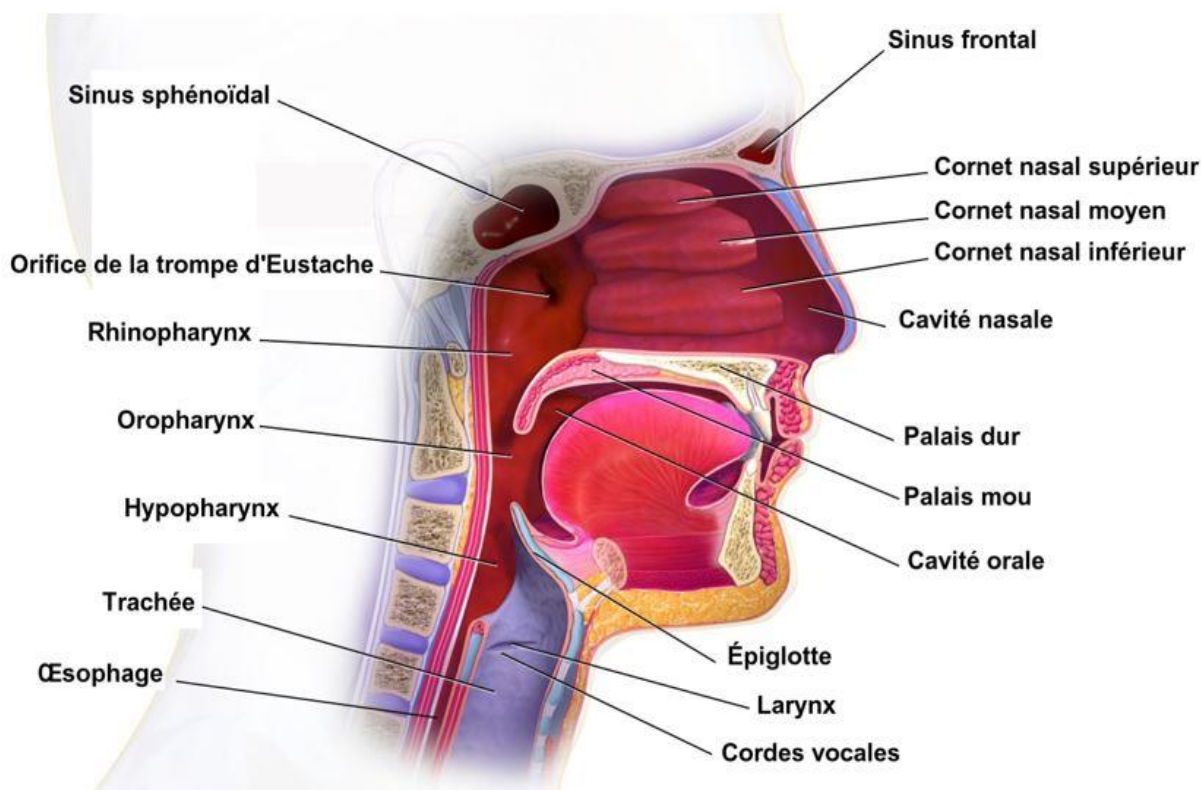


Figure 20 : Voies aériennes supérieures [139].

### III.I.3. VOIES RESPIRATOIRES INFÉRIEURES

#### ➤ **Trachée**

C'est un tube cylindrique de moins de 2,5 cm de diamètre, aplati sur sa face postérieure, recouvert par des anneaux cartilagineux. Il se situe entre le larynx et les bronches. Dans le thorax la trachée se divise en deux grosses bronches dont la trachée droite alimentant en air le poumon droit et la gauche le poumon gauche [144].

#### ➤ **Bronches et bronchioles**

On a deux bronches primaires droites et gauches qui se ramifient depuis la trachée. Ces bronches se subdivisent en bronches secondaires et tertiaires puis en bronchioles (constituant un réseau de bronches très fines s'étendant dans tous le tissu spongieux du poumon) [145].

#### ➤ **Alvéoles**

Ils sont situés aux extrémités des bronchioles ; au plus profond des poumons, elles sont très petites et très nombreuses et elles sont en contact direct avec la petite circulation [145].

#### ➤ **Poumons**

Il est en nombre de deux ; poumon droit et gauche qui sont situés dans la cage thoracique. Le poumon est divisé en lobes et il est spongieux et élastique. Chaque poumon est renfermé environ 350 millions d'alvéoles pulmonaires.

➤ **Plèvre**

Elle représente un double feuillet séreux qui sécrète et contient le liquide pleural. Elle enveloppe les poumons et tapisse la paroi interne sous thorax pour protéger les poumons du frottement contre la cage thoracique [146].

➤ **Diaphragme**

Il est le principal muscle respiratoire, il est situé sous les poumons et sépare la cavité thoracique de la cavité abdominale [147].

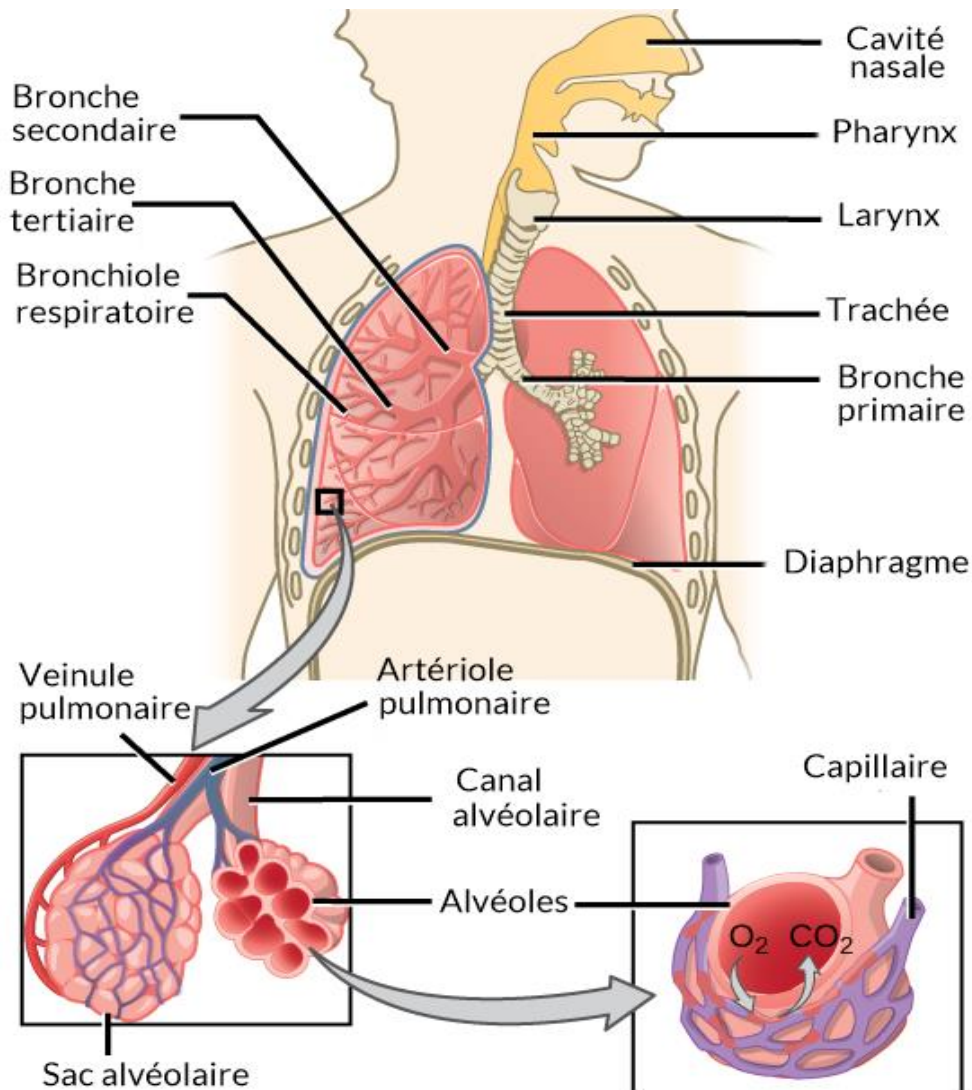


Figure 21 : Voies respiratoires [148].

## III.II. RAPPEL PHYSIOLOGIQUE

### III.II.1. VOIES RESPIRATOIRES SUPERIEURES

➤ **Fosses nasales**

Les fosses nasales ont de nombreuses fonctions (olfactive, ventilatoire, immunitaire), et dont la fonction ventilatoire est d'assurer le passage de l'air inspiré qui est également filtré, humidifié et réchauffé vers le pharynx grâce aux cils et aux mucus [149].

➤ **Pharynx**

Le pharynx a plusieurs fonctions de défense, déglutition, audition, phonation et respiration. Sa fonction respiratoire est de permettre le passage de l'air entre les fosses nasales et le larynx [150].

➤ **Larynx**

Le larynx a trois fonctions principales : la déglutition, la phonation et la respiration. Dans la fonction respiratoire, il permet le passage de l'air du pharynx à la trachée et il protège les voies respiratoires inférieures par l'intermédiaire de l'épiglotte qui ferme l'entrée du larynx pendant la déglutition [151].

### III.II.2. VOIES RESPIRATOIRES INFÉRIEURES

➤ **Trachée**

Elles a deux fonctions : respiratoire et de protection.

- La fonction respiratoire : permet le passage de l'air vers les bronches.
- La protection des poumons : la muqueuse tapissant la trachée permet de protéger les poumons par la sécrétion de mucus qui permet d'agglutiner les impuretés présente dans l'air inspiré, et de l'expulsion des poussières vers l'extérieur grâce aux cellules à cils vibratiles [152].

➤ **Bronches et les bronchioles**

Ils désignent des conduits fibro-cartilagineux tapissés de muscle et de l'épithélium qui sécrète le mucus bronchique, elles sont impliquées dans le passage de l'air entre l'extérieur et l'intérieur des poumons. Les bronches peuvent se dilater pendant l'inspiration pour permettre aux poumons de se dilater et de se contracter pendant l'expiration quand l'air est expiré [153].

➤ **Alvéoles**

A l'extrémité de chaque bronchiole on trouve des petits sacs poreux où se déroulent les échanges gazeux avec le sang. Chaque alvéole est entourée de vaisseaux très fins, appelés capillaires, dont elle est séparée par une membrane. C'est à travers de cette membrane que l'oxygène est transféré de l'air vers le sang, et en sens inverse, le gaz carbonique est éliminé [154].

➤ **Poumons**

Le poumon est l'organe responsable de la respiration et il est divisé en lobes ; le poumon droit présente trois lobes séparés par deux scissures et le poumon gauche présente deux lobes séparés par une scissure. Ils transmettent l'oxygène dans le sang et éliminent le gaz carbonique [146].



➤ **Plèvre**

Elle permet :

- ✓ Le glissement des deux feuillets pleuraux grâce au liquide pleural.
- ✓ Participe à la défense des poumons contre l'inflammation et les infections [155].

➤ **Diaphragme**

Il assure le processus mécanique de la respiration, lors de l'inspiration il se contracte et se déplace vers le bas, Cela permet au volume de la cavité thoracique et des poumons d'augmenter. À l'expiration le muscle est relâché, Le volume de la cavité thoracique et des poumons rétrécit, et l'air est expulsé [155].

### III.III. MECANIQUE VENTILATOIRE

La ventilation est un phénomène périodique qui consiste en une succession de mouvements d'inspiration au cours desquels un volume d'air est inspiré et de phénomènes d'expiration au cours desquels un certain volume d'air est rejeté ou expiré. Ce sont donc des processus qui président à l'entrée et à la sortie d'air des poumons. Les courants gazeux s'établissent toujours d'une zone de haute pression vers une zone de basse pression.

#### III.III.1. INSPARATION

L'inspiration est un phénomène actif au cours duquel le volume thoracique augmente. En revanche la pression alvéolaire (ou la pression des poumons) diminue. Cette pression devient alors inférieure à la pression atmosphérique. Ce phénomène va donc permettre l'entrée de l'air (environ 21% d'oxygène, 78% d'azote et une toute petite partie de CO<sub>2</sub>) de la bouche vers les alvéoles. On dit que ce phénomène agit selon un gradient de pression (c'est-à-dire par différence entre les pressions à l'intérieur et à l'extérieur du poumon). L'augmentation du volume pulmonaire se produit par la contraction des muscles inspiratoires. Ces muscles augmentent la dimension de la cage thoracique dans toutes les directions (augmentation du diamètre dans le sens vertical, dans le sens transversal et dans le sens antéro-postérieur).

#### III.III.2. EXPIRATION

L'expiration est un phénomène passif qui résulte de la relaxation des muscles inspiratoires et du retour élastique du tissu pulmonaire. Étiré lors de l'inspiration, le poumon revient ensuite à sa position de base. À l'expiration de repos on observe donc, grâce au relâchement des muscles inspiratoires, une diminution du volume à l'intérieur du poumon et donc une augmentation de la pression alvéolaire. Cela entraîne une diminution du diamètre des poumons et des bronches. La

pression intra alvéolaire va devenir supérieure à la pression atmosphérique. Cela va donc entraîner la sortie de l'air des poumons vers l'extérieur par gradient de pression.

L'expiration forcée est un phénomène actif. Elle met en jeu des muscles de la paroi abdominale notamment le grand droit de l'abdomen et les obliques internes (abdominaux). Lorsque ces muscles se contractent, ils poussent le diaphragme vers le haut alors que les côtes sont poussées vers l'intérieur et vers le bas. Cela va donc augmenter la pression intra pulmonaire et diminuer le volume [156].

### **III.IV. INFECTIONS RESPIRATOIRES**

#### **III.IV.1. DEFINITION DE L'INFECTION RESPIRATOIRE**

C'est une affection bactérienne, virale, mycosique ou parasitaire des voies respiratoires et des poumons [157].

#### **III.IV.2. PATHOLOGIES RESPIRATOIRES AIGÛES**

Les plus fréquentes sont :

➤ **Rhinopharyngite**

Rhinopharyngite ou rhume est une infection très fréquente des voies respiratoires (qui touche la zone du rhino-pharynx) ; elle est causée par un virus transmissible par voie orale (par des gouttelettes de salive contaminée) et elle se traduit par une fièvre modérée, des maux de gorges et des sécrétions nasales. Plus de 100 virus différents peuvent être à l'origine d'une rhinopharyngite [158].

➤ **Sinusite aigue**

Sinusite, désigne une inflammation des sinus de la face due à un virus ou une bactérie. L'infection atteint le plus souvent les deux sinus maxillaires, faisant suite à une rhinopharyngite ou à cause d'une carie ou abcès dentaire ; et beaucoup plus rarement les sinus frontaux, ethmoïdaux et sphénoïdaux.

Les symptômes de la sinusite maxillaire aiguë correspondent à une congestion nasale avec un écoulement clair ou purulent, une douleur ou sensation de pesanteur sous les yeux, des maux de tête, de la fièvre, de la toux et une sensation de malaise [159].

➤ **Angine**

Angine, signifie une inflammation des amygdales, on parle couramment d'angine rouge ou blanche selon l'aspect des amygdales, le plus souvent elle est d'origine virale et elle peut d'être d'origine bactérienne. L'angine se manifeste par une fièvre, mal de gorge entraînant

une difficulté à avaler et d'autres symptômes peuvent s'associer comme la toux, rhume, ... [160].

➤ **Laryngite**

Est une inflammation du larynx le plus souvent d'origine virale, cette infection est très fréquente en automne et en l'hiver, elle fait généralement suite à une rhinopharyngite. Ses symptômes s'installent progressivement : voix enrouée, toux rauque, difficultés respiratoires.

✚ Remarque : si la laryngite est associée avec une épiglottite elle risque de conduire à une obstruction totale du larynx et nécessite une prise en charge spécialisée à l'hôpital. (épiglottite est une atteinte de l'épiglotte par la bactérie *Haemophilus influenzae* qui se manifeste brutalement par de la fièvre, une hypersalivation, des douleurs du pharynx et des difficultés pour s'alimenter) [158].

➤ **Bronchite**

Une bronchite, est une inflammation des bronches d'origine virale ou bactérienne. Elle débute par une toux sèche et elle se transforme par la suite en toux grasse. Parmi les symptômes les plus fréquemment rencontrés, une fièvre inconstante avec des frissons, une baisse de l'appétit, des maux de têtes, des courbatures, une fatigue, un souffle court... [158].

➤ **Pneumonie**

La pneumonie est une infection pulmonaire, potentiellement mortelle. Elle peut être provoquée par des virus, des bactéries ou des champignons. Selon le germe en cause, elles peuvent être bénignes ou au contraire très graves. Elle se manifeste le plus souvent par une fièvre associée à une toux, des douleurs thoraciques et un essoufflement [158].

### III.IV.3. PATHOLOGIES RESPIRATOIRES CHRONIQUES

➤ **Asthme**

L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des bronches qui se caractérise par des crises récurrentes où l'on observe des difficultés respiratoires et une respiration sifflante dont la gravité et la fréquence varient d'une personne à l'autre. Chez une personne asthmatique, les bronches sont anormalement sensibles à certains facteurs comme l'exercice physique, le froid, la fumée de cigarette ou l'exposition à des substances responsables de réactions allergiques (allergènes). Cette hyper réactivité est la conséquence d'une inflammation permanente des bronches et donc lorsque les bronches enflammées sont agressées elles réagissent en se contractant et en produisant du mucus ce qui gêne le passage de l'air dans les bronches : c'est la crise d'asthme.

La crise d'asthme peut se manifester plusieurs fois par jour ou par semaines et s'aggravent chez certains sujets lors d'un effort physique ou pendant la nuit [159].

➤ **Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)**

Bronchopneumopathie chronique obstructive, est une forme grave de bronchite qui affecte le souffle et provoque des dommages irréversibles des poumons. Elle touche le plus souvent les fumeurs et les fumeuses.

Les symptômes les plus communs des BPCO sont : une toux avec expectoration persistante, essoufflement à l'effort (Au repos, l'air arrive en quantité suffisante dans les poumons mais, à l'effort, le rétrécissement des bronches gêne la ventilation et provoque l'essoufflement). Lorsque la maladie progresse, la difficulté à respirer se fait sentir également au repos.

Parmi les complications majeures de la BPCO : l'emphysème et l'insuffisance respiratoire chronique [159].

➤ **Insuffisance respiratoire chronique**

L'insuffisance respiratoire chronique est l'incapacité de l'appareil respiratoire à assurer les échanges gazeux, c'est-à-dire de renouveler l'oxygène et d'éliminer le gaz carbonique afin de satisfaire aux besoins métaboliques de l'organisme.

Ceci aboutit à l'hypoxémie et éventuellement à l'hypercapnie. Elle se distingue en deux formes :

- Une forme obstructive dont les principales causes sont la bronchite chronique, l'emphysème, l'asthme à dyspnée continue et la dilatation des bronches.
- Une forme restrictive liée à une atteinte de la cage thoracique ou atteinte pleurale ou atteinte du tissu pulmonaire [160].

#### III.IV.4. TRAITEMENTS RECOMMANDÉS

##### III.IV.4.1. Traitements médicamenteux

➤ **Rhinopharyngite**

Est une affection bénigne qui se guérit d'elle-même au bout d'environ une semaine. Le traitement est symptomatique.

- ✓ Le paracétamol pour la fièvre et les maux de tête.
- ✓ Décongestionnant nasal sous forme de vaporisateur pour une période maximale de trois jours chez l'adulte. Pour les enfants, il est préférable d'utiliser une solution saline par inhalation.

- ✓ Médicaments contre le rhume : la plupart associent un antidouleur type anti-inflammatoire non-stéroïdien (AINS) et ou un décongestionnant oral. Ces médicaments soulagent les symptômes de la rhinopharyngite, mais n'accélèrent pas la guérison. Ils sont déconseillés chez les enfants [161].

➤ ***Sinusite***

La plupart du temps, le traitement de la sinusite est symptomatique (des analgésiques et des décongestionnants) en attendant la guérison spontanée. Dans le cas d'une sinusite bactérienne des antibiotiques sont nécessaires en plus des médicaments anti-symptomatiques [161].

➤ ***Angine***

Selon le résultat de test du diagnostique rapide (TDR) on a :

- TDR négatif : angine est d'origine virale et donc le traitement est symptomatique, repose essentiellement sur le paracétamol qui est préférable, parce qu'il est mieux toléré, mais il est possible de prendre également un AINS ou de l'aspirine, en sachant que cette dernière est déconseillée chez l'enfant.
- TDR positif : l'angine est due au streptocoque, donc un traitement symptomatique associé à l'antibiothérapie est recommandé [161].

➤ ***Laryngite***

Si la laryngite résulte d'un épuisement de la voix ; le repos et des inhalations de vapeur permettront généralement de soulager les douleurs et l'inflammation, tout en contribuant au rétablissement. Par contre, si elle est due à une infection, le trouble ne disparaîtra pas tant que l'infection n'aura pas été éliminée.

Pour les infections virales on utilise un traitement symptomatique et pour les infections bactériennes un traitement par les antibiotiques et les corticoïdes est recommandé [162].

➤ ***Bronchite***

- Si la bronchite est d'origine virale le seul traitement est symptomatique.
- Et si la bronchite est d'origine bactérienne une prescription d'antibiotique est recommandée [161].

➤ ***Pneumonie***

- Pneumonie virale : dans la plupart du temps, les pneumonies virales guérissent sans traitement. Dans certains cas, des médicaments antiviraux peuvent être utilisés, en plus du paracétamol pour soulager les douleurs thoraciques.
- Pneumonie bactérienne : la plupart des pneumonies acquises dans la communauté sont traitées par un antibiotique de la classe des macrolides [161].

➤ *Asthme*

- Traitement de fond

**Tableau 1 : Traitement de fond de l'asthme [163].**

Stade de sévérité	Traitement de fond préférentiel	Autre option de traitement de fond
<b>Palier 1 :</b> Asthme intermittent	Corticoïdes inhalés à faible dose à la demande + formotérol	Corticoïdes inhalés à faible dose + bronchodilatateur de courte durée d'action
<b>Palier 2 :</b> Asthme persistant léger	Corticoïdes inhalés à faible dose + formotérol	Montélukast (antagoniste des récepteurs des leucotriènes.) Où Corticoïdes inhalés à faible dose + bronchodilatateur de courte durée d'action
<b>Palier 3 :</b> Asthme persistant modéré	Corticoïdes inhalés à faible dose + Bronchodilatateurs bêta-2 mimétiques à longue durée d'action	Corticoïdes inhalés à dose moyenne Où Corticoïdes inhalés à faible dose + Montélukast
<b>Palier 4 :</b> Asthme persistant sévère	Corticoïdes inhalés à dose moyenne + Bronchodilatateurs bêta-2 mimétiques à longue durée d'action	Corticoïdes inhalés à dose moyenne ou forte + Montélukast ou Tiotropium
<b>Palier 5 :</b> Asthme persistant très sévère	Traitement du palier 4 + Omalizumab, Benralizumab, Mépolizumab ou tiotropium (après réunion collégiale ou avis spécialisé)	+ faible dose de corticoïdes en comprimé

- Traitement de crise : Les bronchodilatateurs d'action rapide sous forme inhalée ; également des bêta-2 stimulants [164].

➤ *Traitement de la BPCO*

Les médicaments sont utilisés pour atténuer les symptômes :

- ✓ Les bronchodilatateurs à courte durée d'action ( $\beta_2$ -mimétiques et/ou anticholinergiques) et les bronchodilatateurs à longue durée d'action : sympathomimétiques, anticholinergique.
- ✓ Dans la BPCO légère, les bronchodilatateurs de courte durée d'action sont utilisés "à la demande" et une administration régulière de celui-ci est recommandée chez les patients atteints de BPCO modérément sévère à très sévère.

- ✓ Les corticoïdes inhalés.
- ✓ Les antibiotiques sont éventuellement prescrits en cas de poussée d'exacerbation.
- ✓ La kinésithérapie respiratoire [161].

➤ **Insuffisance respiratoire chronique**

Le traitement de l'insuffisance respiratoire comporte des corticoïdes pour lutter contre l'encombrement, un respirateur pour réguler la respiration et l'oxygénothérapie dans les cas les plus sévères [165].

### III.IV.4.2. Place de la phytothérapie en infectiologie respiratoire

➤ **Eucalyptus (*Eucalyptus globulus* ; *Eucalyptus radiata*) :**

Sous forme d'huile essentielle (usage externe) ou feuilles (usage interne) est très recommandé dans le traitement des bronchites, de la toux, des pneumonies et d'une manière générale pour toutes les infections des voies pulmonaires [166].



Figure 22 : Huile essentiel d'eucalyptus [167].

➤ **Gingembre (*Zingiber officinale*)**

L'infusion des racines du gingembre est recommandée pour nettoyer naturellement les poumons et les fortifier. Elle les aide également à se débarrasser du mucus, des toxines et de divers allergènes [168].

➤ **Thym (*Thymus vulgaris*)**

Ses feuilles, sa tige et son huile essentielle sont appréciées pour leur action antiseptique, anti-infectieuse et antispasmodique. Il soulage les symptômes des affections broncho-pulmonaires et de la grippe [166].

➤ **Réglisse**

La racine de la réglisse est utilisée souvent pour traiter les inflammations et combattre les infections de l'appareil respiratoire (laryngite, trachéite, bronchite, rhume, etc.) [169].

➤ **Hysope**

Expectorant, fluidifiant ou tonique permettant de traiter et de fortifier les muqueuses des voies respiratoires. L'hysope est reconnue pour ses effets contre la toux quinteuse et les rhinites, grâce à la présence de di terpènes réputés actifs dans la sphère pulmonaire. Elle est utilisée aussi pour traiter l'asthme sécrétoire et inflammatoire. En règle générale, l'hysope permet de soigner les affections pulmonaires et les états grippaux [169].



**Figure 23 : *Hysope officinalis* [170].**

➤ **Origan**

L'huile essentielle d'origan serait capable d'inhiber la croissance d'agents pathogènes responsables d'infections respiratoires diverses dont le staphylocoque doré et le *Candida albicans* ; suggérant qu'elle peut être utilisée comme agent antimicrobien efficace dans le traitement complémentaire de ces types d'infections [171].



# **CHAPITRE IV**

***MONOGRAPHIE DE PLANTES  
MEDICINALES AROMATIQUES  
ETUDIEES***

**IV.I. VERVEINE ODORANTE : « *Aloysia triphylla* » (L'Hér.) Britton****IV.I.1. FAMILLE DES VERBENACEAE****IV.I.1.1. Présentation**

Verbenaceae, famille de plantes dans l'ordre des Lamiales, un regroupement mondial mais principalement tropical, de centaines de genres et d'environ 2600 espèces d'herbacées, d'arbustes et d'arbres. Récemment, selon des études phylogénétiques, elle ne comprend plus que 32 genres et 840 espèces dont certaines sont importantes pour leurs fleurs. Les membres de la famille, parfois connus sous le nom de Verbena ou Verveine sont réparties à travers l'hémisphère occidental (ex : le genre de *Verbena*), les tropiques aux subtropiques d'Amérique et d'Afrique (ex : le genre de *Lantana* L.), l'Asie et l'Europe.

Les plantes de cette famille sont connues comme espèces aromatiques, à usage ornemental ou en médecine populaire depuis les temps anciens. La plupart de leurs propriétés sont dues à l'huile essentielle (HE) produite par leur métabolisme secondaire. [172-175].

Quelques genres des Verbenaceae :

- Le genre de *Verbena* ; (250 espèces).
- Le genre de *Lippia* ;
- Le genre de *Lantana* ;
- Le genre d'*Aloysia*. [173]



**Figure 24 : *Verbena officinalis* [176].**



**Figure 25 : *Lippia alba* [177].**



**Figure 26 : *Aloysia triphylla* [178].**

**IV.I.1.2. Caractères botaniques**

La famille des verbenaceae est très proche de la famille des Lamiaceae. La plupart des espèces sont ligneuses. *Glandularia*, *Verbena*, *Phyla* et *Pitraea* étant les seuls genres herbacés. La lignosité des Verbenaceae est représentée par les plantes qui sont des petits arbres, des arbustes ou des

lianes. La présence d'une fluorescence terminale est l'état plésiomorphe de la famille. Il peut prendre la forme d'un épi ou d'un racème, trouvé avec ou sans florescences axillaires [184, 189].

#### *IV.I.1.2.1. Appareil végétatif*

- **Les tiges**

Elles sont variées selon les genres et les espèces de la famille, elles sont ligneuses, herbacées, dressées, quadrangulaires, plus ou moins ramifiées [179, 180].

- **Les feuilles**

Elles sont caduques, semi persistantes, persistantes, opposées, sessiles ou pétiolées, verticillées, découpées, pennatilobées, cunéiformes, ovales lancéolées ou denticulées [179, 180].

#### *IV.I.1.2.2. Appareil reproducteur*

- **Les fleurs**

Sont petites, pédicellées ou sessiles, de couleur violacée, rose ou blanc-jaunâtre selon les espèces de la famille [174, 179].

- **Les fruits**

Le type de fruit le plus fréquent dans les Verbenaceae est un schizocarpe sec, mais certains membres de la famille ont des fruits drupacés charnus [174].

#### *IV.I.1.2.3. Chimie de la famille*

Cette famille contient divers métabolites tels que : les composés phénoliques, les alcaloïdes les flavonoïdes, les glucides, les protéines, les saponines, les stéroïdes, les tanins, l'amidon, les glycosides, les résines, les anthocyanes et les terpénoïdes, aussi les alcools gras, les cétones et les lignanes, en quantités variables selon les différentes espèces [181].

#### IV.I.2. LE GENRE *Aloysia*

*Aloysia* est un genre de 30 espèces d'arbustes et d'arbres vivaces étroitement dressés à ascendants, de 0,5 à 15 m de haut, originaires des régions arides, tempérées et subtropicales d'Amérique du Nord et du Sud. Les membres de ce genre sont largement cultivés à des fins culinaires, médicinales et ornementales. Parmi les caractéristiques déterminantes, se trouve : des tiges quadrangulaires à arrondies avec l'âge, des feuilles caduques ou persistantes, principalement opposées, des inflorescences laxistes plus ou moins allongées, se produisant dans des arrangements axillaires ou des inflorescences condensées et un calice à quatre lobes, à l'exception de certaines espèces avec des calices bifides [185, 186].

IV.I.3. L'ESPÈCE: *Aloysia citriodora* Palau / Synonyme « *Aloysia triphylla* » L'Her. Britton

## IV.I.3.1. Position systématique / taxonomie

✓ *Classification APGIII (2009)*Tableau 2 : Classification APGIII de la verveine odorante « *Aloysia triphylla* » [184].

<b>Embranchement</b>	<b>Spermaphytes</b>
<b>Sous- Embranchement</b>	<b>Angiospermes</b>
<b>Classe</b>	<b>Eudicotylédones</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Astéridées</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Famille</b>	<b>Verbenaceae</b>
<b>Genre</b>	<i>Aloysia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Aloysia triphylla</i> (L'Her). Britton

✓ *Noms vernaculaires*Tableau 3 : Liste des noms vernaculaires d'*Aloysia triphylla* (*A.triphyla*) [185].

Nom français	- Verveine vraie / odorante - Verveine citronnée / citronnelle
Nom anglais	- Lemon verbena - Lemon beebrush
Nom Arabe	- لويزة ليمونية (Louiza laymunia)

**Confusions nominatives possibles :**

verveine officinale (*Verbena officinalis* Linn.), thym-citron (*Thymus citriodorus* [Pers.] Schreb. ex Schweigg. & Körte, 1811) ou citronnelle, mélisse ou citronnelle, citronnelle (*Cymbopogon citratus* Stapf.) [198].



Figure 27 : Verveine odorante [187].

### IV.I.3.2. Description botanique

La plante est un arbuste vivace, ramifiée, pouvant atteindre 3 à 5 m de hauteur dans son air d'origine ou sous climat chaud et ne dépassant plus de 0.8 à 2 m en zone tempérée froide [186].

#### IV.I.3.2.1. Appareil végétatif

- **Les tiges**

Sont longues, dressées, anguleuses, cannelées, ramifiées (les plus jeunes sont quadrangulaires) [180, 185].

- **Les feuilles**

Sont simples, courtement pétiolées, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, étroites, lancéolées, environ 4 fois plus longues que larges (environ 7-10 cm).

Les bords, entiers, ondulés, sont recourbés vers la face supérieure. Cette dernière est rugueuse au toucher, la face inférieure, d'un vert plus pâle, présente une nervure médiane saillante et des nervures secondaires dirigées vers les bords [202].



Figure 28 : Tige de la verveine odorante [188].



Figure 29 : Feuille de la verveine odorante [190].

#### IV.I.3.2.2. Appareil reproducteur

- **Les fleurs**

Sont petites, zygomorphes et hermaphrodites, disposées en épis lâches allongés.

- ✓ **Périanthe**

- Calice : de 2–3 mm, tubulaire, à quatre sépales ouverts en forme des dents courtes, souvent teint en brun ou violet ;
- Corolle : constituée de quatre pétales soudés à la base, étalée en quatre lobes bicolores blancs sur la face externe. bleu violacé sur la face interne.



Figure 30 : Fleurs de la verveine odorante [192].

✓ **Androcée**

Les pétales forment un tube de 4 -5 mm à la base qui recouvre 4 étamines : 2 étamines longues et 2 étamines courtes, [180, 185, 191].

✓ **Gynécée**

Un stigmate entier ; style court et un ovaire unicarpellé [174].

• **Le fruit**

Un fruit petit, drupacé à deux loges, contenant chacune une petite graine [186].

**IV.I.3.3. Répartition géographique et Origine**

Les pays d'origine : l'Argentine, Chili et Pérou. La plante à une large répartition géographique en Amérique du Sud et en Afrique du Nord et au sud de l'Europe [186, 191].



**Figure 31 : Répartition géographique et origine de la Verveine odorante**  
[Auteur B.A].

Actuellement, elle est disponible dans d'autres parties du monde en raison de son application dans les industries alimentaires et cosmétiques, ainsi que son utilisation comme remède à la maison pour plusieurs problèmes de santé [191].

**IV.I.3.4. La partie utilisée (drogue)** On utilise les feuilles, les tiges feuillues et les sommités fleuries [195].



**Figure 32 : Feuilles fraîches d'*Aloysia triphylla*** [193].



IV.I.3.4.1. Nature de la drogue : Les feuilles séchées, entières ou fragmentées, d'*Aloysia triphylla* [189].



Figure 33 : Feuilles sèches d'*Aloysia triphylla* [194].

#### ***IV.I.3.4.2. Production de la drogue***

La culture d'*Aloysia triphylla* est facile dans des sols au pH neutre, fertiles, bien drainés et bien ensoleillés (Elles survivent quelques heures à -5°C). Les plantes adultes peuvent se multiplier aisément par éclats des souches à l'automne ou par marcottage ou bouturage, au printemps quand la sève se met à monter, ou en fin d'été, quand elle descend. Il est recommandé d'arroser fréquemment les pieds de cette plante durant l'été, car la sécheresse peut entraîner la chute des feuilles [189].

#### ***IV.I.3.4.3. Récolte et Conservation***

- **Récolte**

Les feuilles d'*Aloysia triphylla* sont récoltées généralement à la fin de l'été, entre mi-juillet et mi-octobre, ou quand la plante a fleuri (les feuilles conservent leur parfum très longtemps) [186].

- **Conservation**

Les feuilles fraîches sont stockées dans des sacs en plastique à plus 4° C. Après séchage, elles sont stockées dans des sacs en papier à 22 ° C et 40% de l'humidité relative [195].

#### ***IV.I.3.4.4. Caractères botaniques de la drogue***

- **Aspects organoleptiques**

Lorsqu'elle est broyée, la drogue à examiner présente une odeur rafraîchissante caractéristique rappelant celle du citron [189].

- **Aspects macroscopiques**

La feuille verte a un pétiole de 0,5 à 1,5 mm de long ; un limbe de 2,5 à 10 cm de long et de 0,5 à 2,5 cm de large, étroitement elliptique à lancéolé, une marge entière à légèrement dentée, une nervure médiane très proéminente et des nervures secondaires dirigées vers les bords qui sont recourbés vers la face supérieure [186, 193].

- Aspects microscopiques

- ✓ La coupe histologique des feuilles

Elle présente un épiderme supérieur non stratifié avec une cuticule fine et lisse, sans stomates. Le mésophylle est dorsiventrale, avec 2-3 couches de parenchyme palissadique. Les cellules du parenchyme lacuneux sont situées à côté de l'épiderme inférieur, agencées de manière lâche, avec de nombreux espaces intercellulaires entre elles. La nervure médiane est constituée d'un faisceau vasculaire collatéral. L'épiderme inférieur n'est pas stratifié et présente des stomates en colonnes [196].

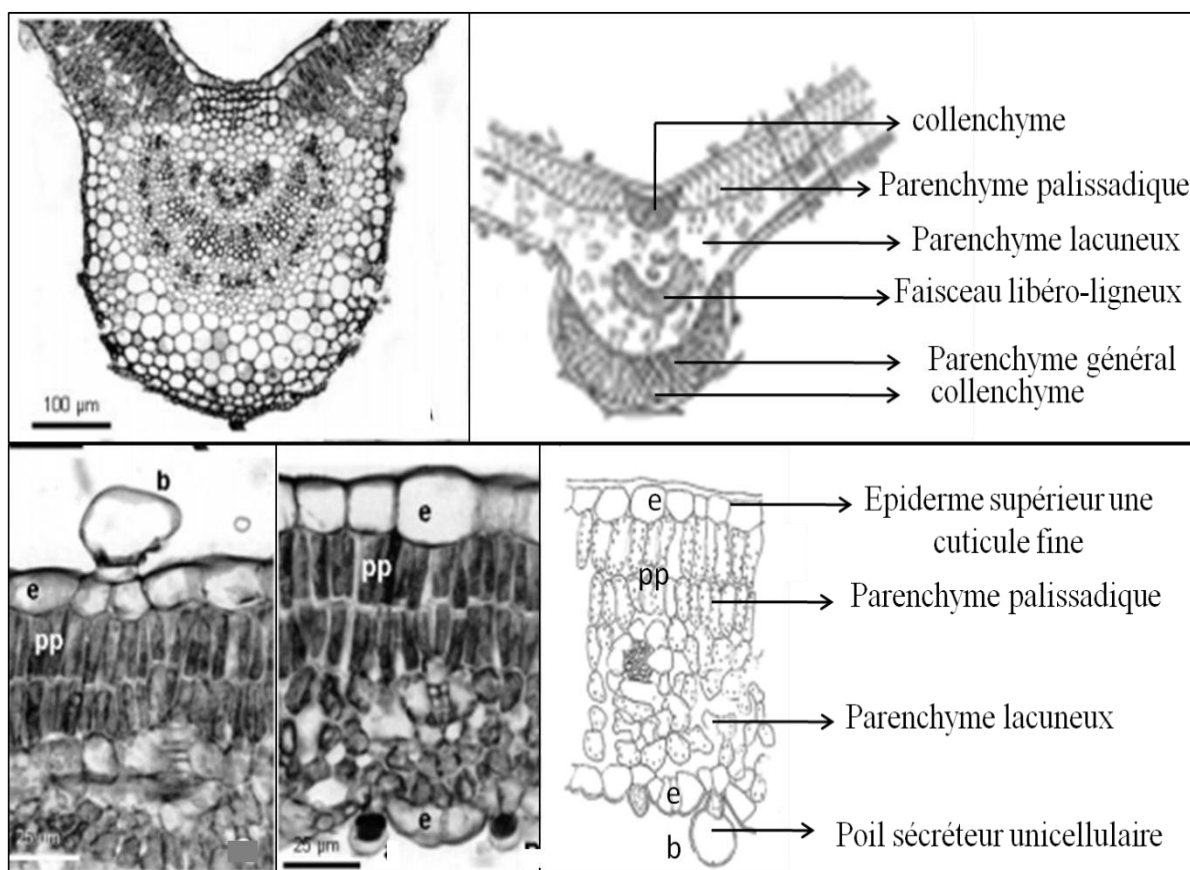
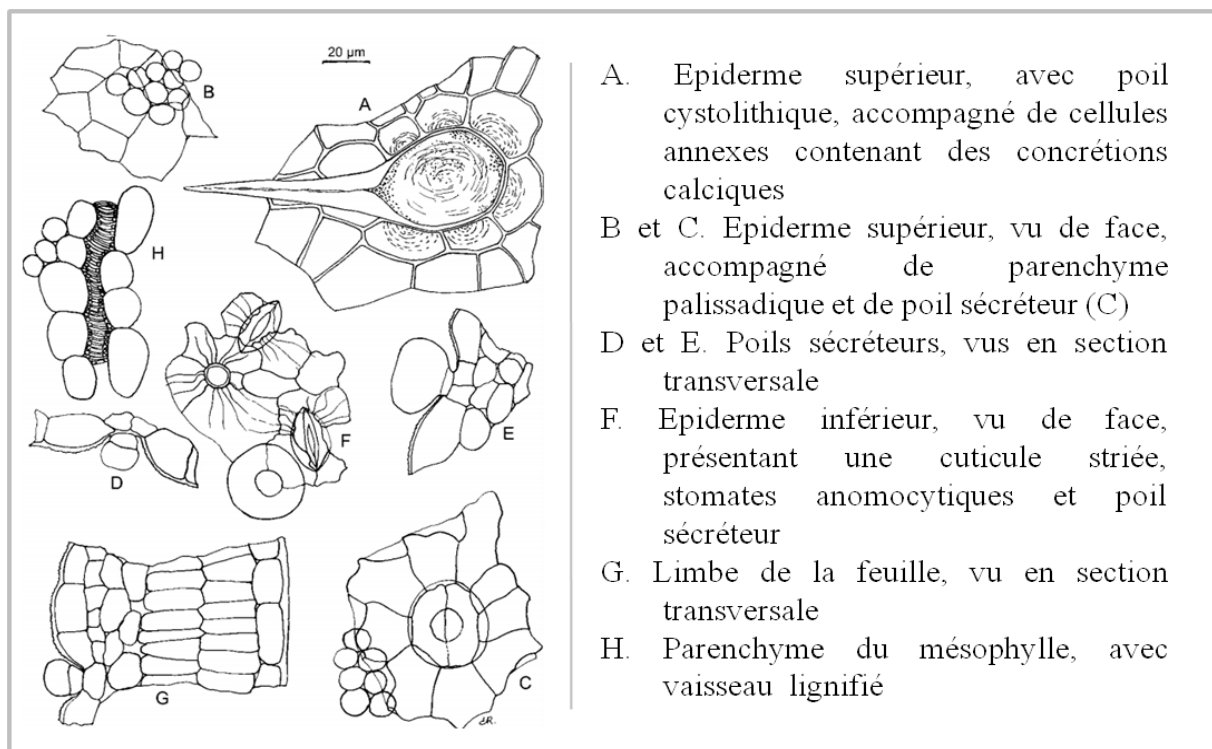


Figure 34 : Coupe histologique d'une feuille d'*Aloysia triphylla* [196].

- ✓ La poudre des feuilles

C'est une poudre d'aspect vert clair ; présente des fragments de l'épiderme supérieur du limbe, vue de face, composés de cellules polygonales ; de nombreux poils cystolithiques courts, unicellulaires, à parois épaisses, dont la base est entourée de cellules disposées en rosette et l'absence de stomates ; des fragments de l'épiderme inférieur du limbe composés de cellules plus irrégulières, aux contours plus ou moins sinueux, de nombreux stomates anomocytiques et de nombreux poils sécréteurs, subsessiles, à tête globuleuse ; des fragments des parenchymes du mésophylle ; et des faisceaux de vaisseaux des nervures [189].





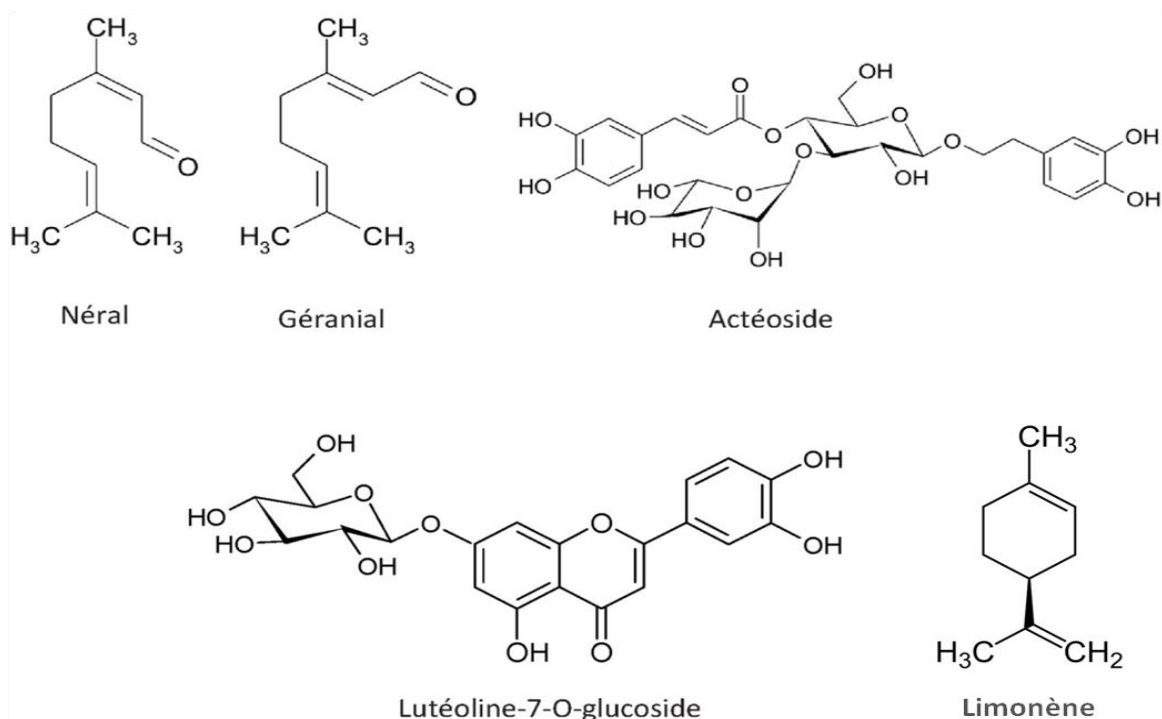
**Figure 35 : Dessin des éléments microscopiques de la poudre de feuilles d'*Aloysia triphylla* [189].**

#### IV.I.3.4.5. Composition chimique

La feuille contient de 0,1 à 0,7 % d'huile essentielle, au minimum ; 3,0 ml/kg pour la drogue entière et 2,0 ml/kg pour la drogue fragmentée. L'huile essentielle est principalement composée de monoterpènes et monoterpénoïdes, sesquiterpènes et sesquiterpénoïdes. Les monoterpènes principalement détectés dans l'HE de feuilles d'*Aloysia triphylla* sont : le géraniol, le néral et le limonène, les autres composants : citronellol, géraniol, cinéole, curcumène, alpha-pinène, sabinène, bêta-ocimène et bêta-caryophyllène [185-191, 196, 197].

La feuille contient également des flavonoïdes (Salvigénine, eupatorine, eupafoline, 6 hydroxylutéoline, lutéoline, lutéoline-7-O- $\beta$ -glucoside, hispidutine, cirsimaritrine, diosmétine, chrysoériol, apigénine, pectolinarigénine et cirsiol) ; des acides phénols : (Actéoside au minimum 2,5%) ; des iridoïdes (Verbénaline, aspéruloside, gardoside, thévéside) et d'autres dérivés phénylpropanoïques (Eukovoside, forsythoside, martinosite) [188, 192].

En plus des composés phytochimiques susmentionnés, certaines autres structures chimiques telles que les alcools gras, les cétones, les lignanes et les triterpènes sont également isolées de l'huile essentielle, de l'extrait aqueux et des extraits alcooliques des parties aériennes d'*A. triphylla* [191].



**Figure 36 : Structure des principaux constituants d'*Aloysia triphylla* [185].**

#### ***IV.I.3.4.6. Propriétés pharmacologiques***

Il y a un manque de recherche clinique évaluant les effets d'*Aloysia triphylla*. Des études randomisées et des essais cliniques contrôlés et rigoureux devraient être requis.

L'huile essentielle d'*Aloysia triphylla* a des effets antimicrobiens, des effets antifongiques, des effets larvicides, des effets insecticides, des activités neuroprotectrices, et des effets antigénotoxiques contre les dommages à l'ADN induits par le rayonnement ultraviolet.

Peu d'expériences pharmacologiques ont montré également des effets anti-inflammatoires et anti-nociceptifs d'HE.

Les infusions des feuilles ont des effets gastro-intestinaux et spasmolytiques, des effets antioxydants et anticancéreux, des effets œstrogéniques et cardiovasculaires [185, 191, 198-200].

#### ***IV.I.3.4.7. Indications thérapeutiques et Formes d'emplois***

- *Indications thérapeutiques*

En applications pharmaceutiques, la tisane de la verveine odorante est recommandée pour traiter les indigestions, les flatulences, les gastralgies, la dyspepsie, les névroses, les céphalées, les bourdonnements d'oreille, l'asthénie, les attaques cardiaques et épileptiques, les acouphènes, les troubles mineurs du sommeil et les états anxieux mineurs. La verveine est parfois aussi donnée

comme fébrifuge, anti-inflammatoire, antinévralgique, antispasmodique, cicatrisant, décongestif veineux (varices, jambes lourdes, hémorroïdes, etc.), désinfectant et tonique.

En aromathérapie, l'huile essentielle est utilisée dans le traitement de problèmes nerveux et digestifs, ainsi que pour les ulcères et l'acné, elle est utilisée par voie externe pour : l'érythème solaire ; les brûlures superficielles et peu étendues et les érythèmes fessiers [185, 186].

- *Formes d'emplois*
  - Drogue fraîche ou sèche pour infusion ;
  - Hydrolat ;
  - Huile essentielle [185].



**Figure 37 : Infusion (Verveine odorante) [201].**



**Figure 38 : Hydrolat (Verveine odorante) [202].**



**Figure 39 : Huile essentielle (Verveine odorante) [203].**

#### ***IV.I.3.4.8. Interactions, effets indésirables et toxicité***

Aucune toxicité aiguë ou chronique n'est signalée pour l'utilisation, mais des doses élevées de verveine odorante peuvent provoquer des irritations gastriques et la teneur élevée en citral dans l'HE peut également provoquer une photosensibilité [191].

En usage interne, l'HE fait baisser le taux d'insulinémie, donc elle est à éviter en cas de diabète et en cas de prise des antidiabétiques oraux.

La verveine odorante est contre indiquée chez les enfants, les sujets à peaux sensibles, les personnes souffrant de leucémie et la femme enceinte et allaitante [185].

## IV.II. THYM ET ORIGAN

### IV.II.1. FAMILLE DES LAMIACEAE

#### IV.II.1.1. Présentation

La famille des Lamiaceae comprend 245 genres et de 7886 espèces, elle est plus répandue dans le bassin méditerranéen (Thym, Lavande, Romarin), l'Asie (centrale, sud-ouest, La chine et la région indo-malésienne), l'Afrique subsaharienne et Madagascar.

Ce sont des plantes à essence dont l'odeur se dégage par simple attouchement ; en effet, la localisation des huiles essentielles est très externe ; elles se forment dans des poils à essence et se localisent sous la cuticule qui se soulève. Elles sont cultivées et utilisées par l'homme à des fins ornementales et dans la cuisine, la parfumerie, la liqueur, la pharmacie et la médecine populaire [204, 205].

Quelques genres des Lamiaceae Algérienne :

- Le genre de *Thymus* ;
- Le genre d'*Origanum* ;
- Le genre de *Rosmarinus* ;
- Le genre de *Lavandula*.



Figure 40 : Plantes de la famille des Lamiaceae [206].

#### IV.II.1.2. Caractères botaniques

Les espèces de la famille des lamiaceae sont des plantes herbacées, des lianes, des arbustes et rarement des arbres, avec des inflorescences en cymes axillaires plus ou moins contractées, simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis. Les plantes herbacées se multiplient, en une même saison, à l'aide des rejets aériens ou rhizomateux [179, 205].

#### *IV.II.1.2.1. Appareil végétatif*

- *Les tiges*

Sont quadrangulaires, souvent renflées aux nœuds, ligneuses, érigées ou rampantes.

- *Les feuilles*

Sont simples, en général opposées décussées sans stipules, linéaires, lancéolées, entières à marges révolutes [179, 205, 207].

#### *IV.II.1.2.2. Appareil reproducteur*

- *Les fleurs*

Sont pentamères en général hermaphrodites, disposées en cymes axillaires plus ou moins contractées, ou encore condensées au sommet des tiges [179, 205, 207].

- *Les fruits*

Sont des tétrakènes, logés au fond d'un calice persistant, plus ou moins soudés par leur face interne et diversement ornés [179, 207].

#### *IV.II.1.2.3. Chimie de la famille*

La chimie de la famille des lamiaceae est proche de celle de la famille des verbenaceae ; on observe la présence de divers métabolites tels que composés phénoliques, alcaloïdes, flavonoïdes, glucides, protéines, saponines, stéroïdes, tanins, amidon, glycosides, résines, anthocyanes et terpénoïdes en quantités variables [179].

#### IV.II.2. LE GENRE *Thymus*

Le genre *Thymus*, est l'un des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae pour son nombre élevé d'espèces, environ 250 à 350 taxons (nombreuses espèces et variétés) ; il comprend d'importantes plantes aromatiques, sous-ligneuses, érigées ou prostrées et odorantes, qui produisent une quantité notable de composés volatils et extraits sous forme d'huiles essentielles. Ce genre est réparti sur l'Europe, l'Asie et l'Afrique du Nord. Sa détermination toujours délicate, en raison de l'extrême variabilité des espèces et des hybridations interspécifiques [179, 208, 209].

IV.II.2.1. L'ESPÈCE : *Thymbra capitata* L. /Syn. : *Thymus capitatus* L. Hoffmanns et Link

## IV.II.2.1.1. Position systématique/taxonomie

Classification APGIII (2009)

Tableau 4 : Classification APGIII de thym à têtes « *Thymus capitatus* » [184].

<b>Embranchement</b>	<b>Spermaphytes</b>
<b>Sous- Embranchement</b>	<b>Angiospermes</b>
<b>Classe</b>	<b>Eudicotylédones</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Astéridées</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Famille</b>	<b>Lamiaceae</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Thymus</i></b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Thymus capitatus</i> Hoffm et Link</b>

## ✓ Noms vernaculaires

Tableau 5 : Liste des noms vernaculaires du *Thymus capitatus* (*T.capitatus*) [210].

Nom français	- <b>Thym à têtes</b> - <b>Thym capité</b>
Nom anglais	- <b>Conehead thyme</b> - <b>Headed savory</b> - <b>Mediterranean thyme</b>
Nom Arabe	- <b>الزعيترة (Azzi'tra)</b>



#### IV.II.2.1.2. Description botanique

Le *thymus capitatus* est un Arbrisseau de 10 à 40 cm, sauvage, rigide, vivace, et complexe avec une inflorescence jusqu'à 15 x 10 mm, capituliformes et des bractées un peu plus larges que les feuilles [211, 212].

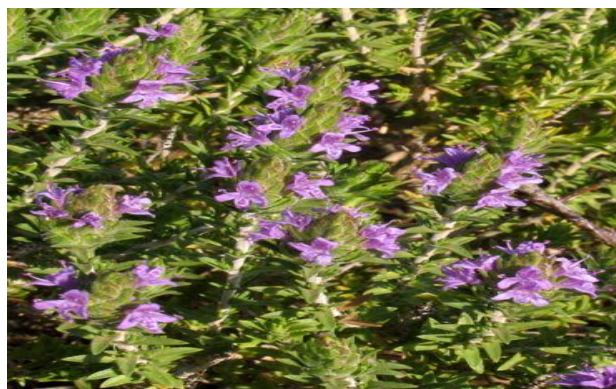


Figure 41 : *Thymus capitatus* [213].

##### IV.II.2.1.2.1. Appareil végétatif

- **Les tiges**

Tiges quadrangulaires, ligneuses, ramifiées, à poils courts et blanchâtres [205, 211, 214].

- **Les feuilles**

Feuilles sessiles, linéaires ou linéaires-lancéolées, recourbées, aiguës, généralement glabres, ciliées à la base, avec un nerf central marqué [189, 211].



Figure 42 : Tiges et les feuilles de *Thymus capitatus* [218].

##### IV.II.2.1.2.2. Appareil reproducteur

- **Les fleurs**

Les fleurs sont petites, de couleur violette ou allant du rose au rouge.

- ✓ **Périanthe**

- Calice : de 3,5 à 5,5 mm, bilabié, comprimé latéralement, fortement rétréci à son extrémité, à dents serrées les unes contre les autres, bombé ventralement, et des glandes sphéroïdes, trois dents supérieures de 1 mm et deux dents inférieures de 2 à 2,5 mm ;
- Corolle : de 6 à 10 mm, longuement saillante, plus de deux fois plus longue que le calice.

- ✓ **Androcée** : est à quatre étamines très longues ;

- ✓ **Gynécée** : Un gynécée disposé sur un disque nectarifère toujours présent ; deux carpelles soudés qui se subdivisent chacun par une fausse cloison en deux demi-loges, chacune contenant une ovule [179, 205, 211, 214].



Figure 43 : Fleurs de *Thymus capitatus* [210].

- **Le fruit**

Le fruit est un tétrakène logé au fond d'un calice persistant, chaque demi-carpelle donnant naissance à un akène élémentaire [205].

#### IV.II.2.1.3. Répartition géographique et Origine

*Thymus capitatus* est une plante endémique méditerranéenne, originaire d'Europe du Sud, d'Afrique du Nord et d'Asie [216].

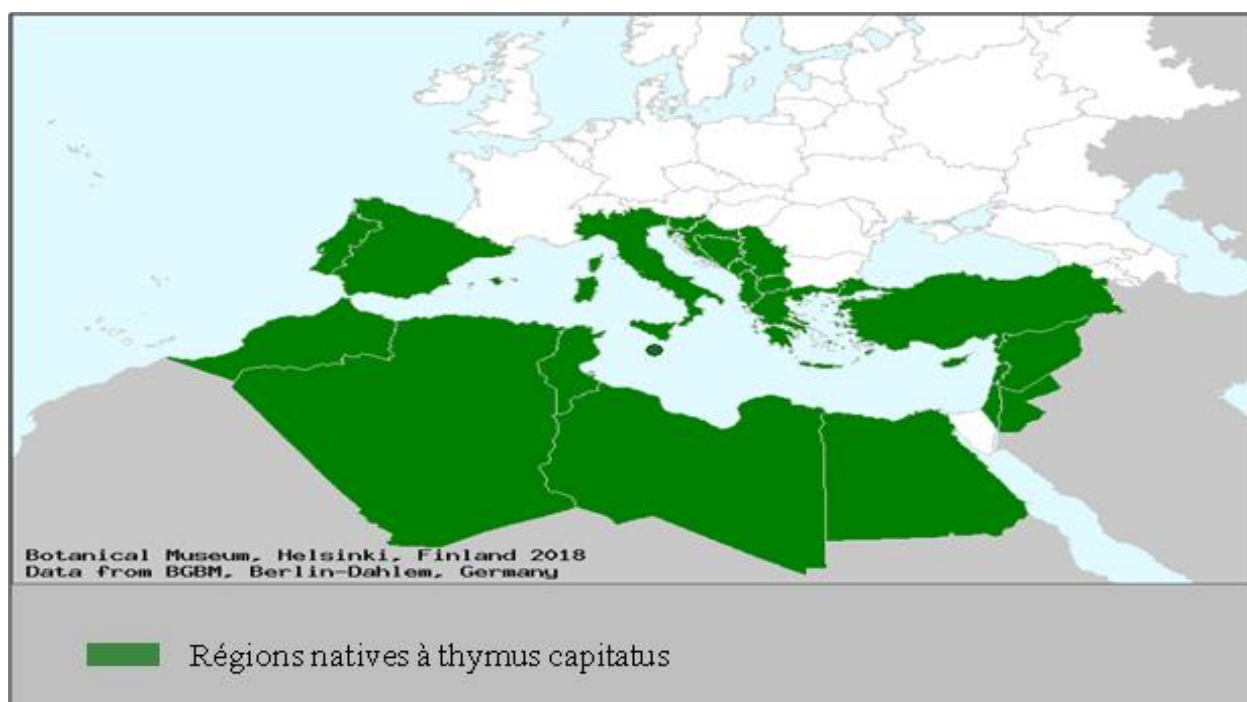


Figure 44 : Répartition géographique de *Thymus capitatus* [217].



#### IV.II.2.1.4. La partie utilisée (drogue)

On utilise les feuilles et les sommités fleuries [212].



**Figure 45 : Sommités fleuries sèches de thym à têtes [218].**



**Figure 46 : Feuilles sèches de thym à têtes [219].**

##### IV.II.2.1.4.1. Nature de la drogue

Les feuilles et les sommités fleuries entières, détachées des tiges, préalablement séchées [212].

##### IV.II.2.1.4.2. Production de la drogue

Le *thymus capitatus* est une plante sauvage qui pousse dans les sols calcaires légers, rocheux, argileux ou même sablés (tolère la sécheresse), elle prospère en plein soleil et tolère partiellement l'ombre.

Cette espèce est collectée dans des sites de culture sauvage principalement comme sources d'herbes médicinales séchées, le *T.vulgaris* est la seule espèce cultivée commercialement en quantités raisonnables [211, 220].

##### IV.II.2.1.4.3. Récolte et Conservation

- **Récolte**

Le meilleur moment pour récolter le *Thymus capitatus* est pendant la période de floraison (ou au début de la pleine floraison), cette dernière peut varier d'une région géographique à l'autre en fonction de leurs conditions climatiques [221].

- **Conservation**

Le thym séché doit être conservé dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière et peut être stockée à (5–7) °C pendant plus de 12 mois [221].

Le thym finement broyé a tendance à perdre des substances volatiles plus rapidement que le thym moyennement ou grossièrement broyées et doit être conservé dans des récipients bien fermés ou dans des sacs en papier multicouches ayant une doublure imperméable [221].

#### IV.II.2.1.4.4. Caractères botaniques de la drogue

- **Aspects organoleptiques**

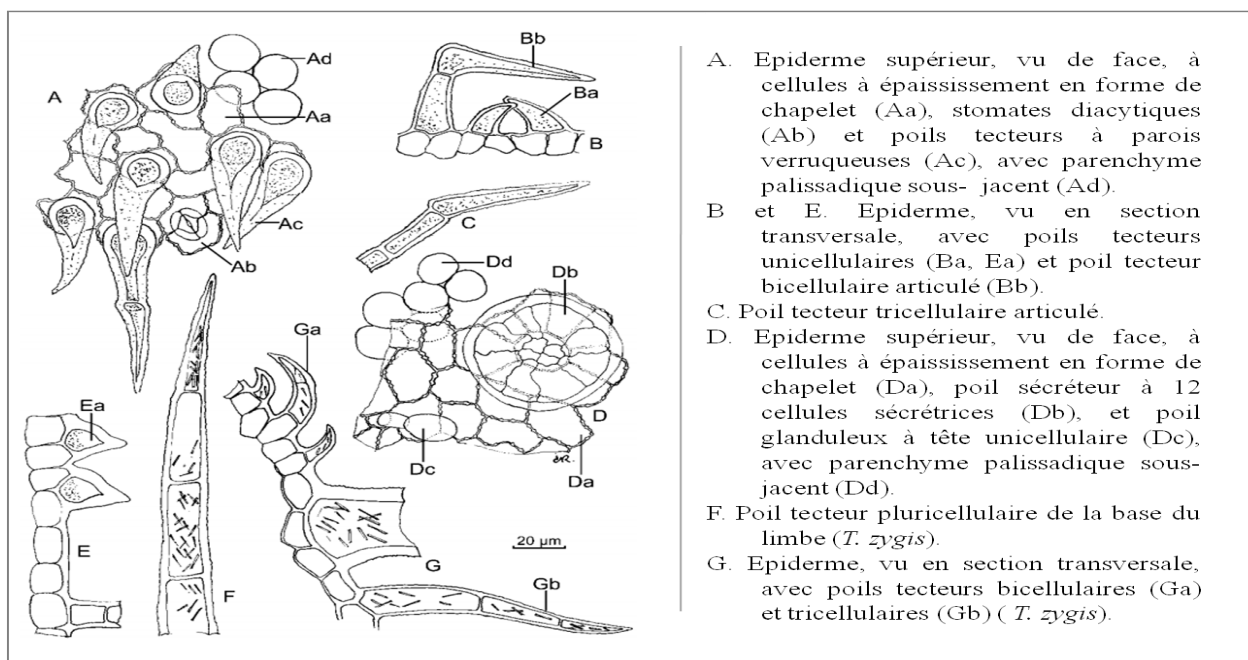
Elle a une forte odeur aromatique caractéristique de thymol et un goût persistant chaud [222].

- **Aspects macroscopiques**

La feuille grise-verte a une longueur de 5-10 mm et une largeur de 1–1,5 mm, linéaire lancéolée, avec de nombreuses glandes sphériques rougeâtres, généralement glabres [189, 211].

- **Aspects microscopiques**

La poudre des feuilles est de couleur brun-vert ; l'épiderme présente des cellules à parois anticlinales sinueuses, à épaississements en forme de chapelet et des stomates de type diacytique ; de nombreux poils sécréteurs composés de 12 cellules sécrétrices dont la cuticule commune est soulevée par la sécrétion et prend la forme d'une vésicule globuleuse ou ovoïde ; des poils glanduleux à pédicelle unicellulaire et à tête globuleuse ou ovoïde, des poils tecteurs de l'épiderme adaxial, à paroi verruqueuse, en forme de dents pointues ; des poils tecteurs verruqueux de l'épiderme abaxial, de plusieurs types : unicellulaires dressés ou légèrement incurvés et bicellulaires ou tricellulaires, articulés, plus ou moins dressés [189].



**Figure 47 : Dessin des éléments microscopiques caractéristiques de la poudre de feuilles de *Thymus capitatus* [189].**

## IV.II.2.1.4.5. Composition chimique

L'huile essentielle de *Thymus capitatus* (au minimum 12 ml/kg de drogue anhydre) est composée de : monoterpènes oxygénés (thymol et carvacrol, linalool et terpinéol...), hydrocarbures monoterpéniques (p-cymène et  $\gamma$ -terpinène, alfa-thujène, alfa-pinène, camphène et bêta-myrcène), sesquiterpènes (caryophyllène, ledène, capaène, delta-amorphène, beta-bisabolène et l'oxyde de caryophyllène...), acides pentadécanoïques et trans-13-octadécénoïques. Le thymol (51,22 %) et le carvacrol (12,59 %) sont les constituants majeurs et les plus actifs de l'HE des feuilles de thymus capitatus Algérien (région de Tiaret), ainsi que le  $\gamma$ -terpinène (10,3 %). La somme des teneurs en thymol et carvacrol est au minimum 40 % dans l'huile essentielle du genre thymus selon la Pharmacopée Européenne. 7 éd [189, 223, 224].

Les composés des fleurs de *Thymus capitatus* constituent la principale classe phénolique, les flavonoïdes et les tanins. Le thymol, l'acide férulique et gallique étaient les composés phénoliques les plus abondants [225].

La quantité des composants présents dans l'HE de la plante est différente d'une région géographique à une autre, même si est dans le même pays [223].

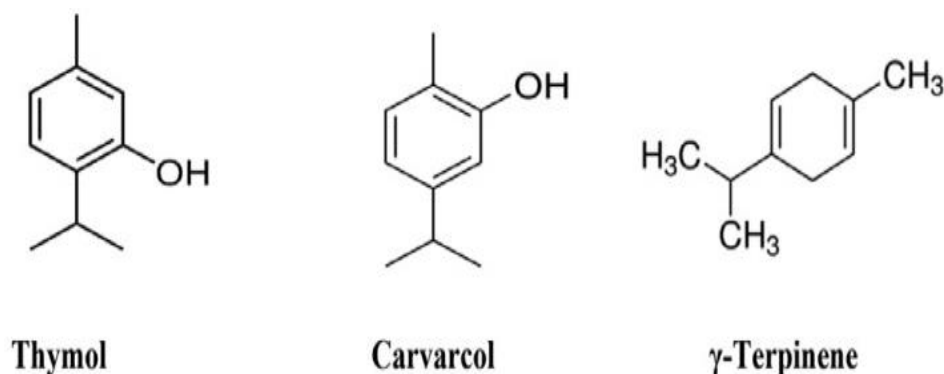


Figure 48 : Structure des principaux constituants de *Thymus capitatus* [223].

## IV.II.2.1.4.6. Propriétés pharmacologiques

L'huile essentielle de *Thymus capitatus* a des activités antimicrobiennes, antiparasitaire, antifongiques, antivirales, antioxydantes, antispasmodiques, antitussif, expectorantes, tonique, carminatif et également une activité antinociceptives (agit via le blocage de l'excitabilité nerveuse périphérique), anti-inflammatoire, antihypertenseur, hépatoprotecteur, antitumoral et hypoglycémique [214,216, 223, 224, 225, 226].

## IV.II.2.1.4.7. Indications thérapeutiques et Formes d'emplois

- **Indications thérapeutiques**

- ✓ En usage interne

Le thym est utilisé dans le traitement de diverses maladies des voies respiratoires : la grippe, le rhume, la sinusite, la bronchite chronique et aiguë, la toux convulsive calmante et la toux irritable et spasmodique (asthme), des troubles gastro-intestinaux comme la dyspepsie, les coliques, la fermentation, les flatulences, la diarrhée, la gastrite et les ulcères gastriques ; également comme tonique nerveux et antiasthéniques ; utile pour lutter contre l'insomnie, l'anxiété et la dépression . De plus, il est utilisé pour ses propriétés diurétiques et antiseptiques ; dans le système cardiovasculaire, le thym aide à la circulation, se comportant comme un agent hypocholestérolémiant. Les infusions et les décoctions des feuilles et des fleurs ont été utilisées également comme anti-inflammatoire et antiparasitaire [225, 227].

- ✓ En usage externe

Les infusions et l'huile essentielle de thym sont traditionnellement utilisées pour traiter les blessures, les ecchymoses, les ulcères infectés, les ulcères cutanés, les abcès, les divers types de dermatite, le prurit et l'alopecie (prévient la calvitie). Les émulsions sont utiles en massage contre les douleurs rhumatismales, la goutte et les douleurs névritiques [227].

- **Formes d'emplois**

Naturelles :

- Drogues fraîches et sèches pour infusion ;
- Huiles essentielles ;
- Epices [227].

Galéniques :

- Pommades ;
- Emulsions ;
- Gouttes ;
- Sirops ;
- Gélules et capsules ;
- Suppositoires et ovules [227].



**Figure 49 : Huile essentielle de thym [228].**



**Figure 50 : Sirop au thym [229].**

*IV.II.2.1.4.8. Interactions, effets indésirables et toxicité*

Aucune interaction connue n'est rapportée avec le thym.

L'HE riche en thymol et carvacrol provoque des irritations cutanées et des irritations des muqueuses [240].

L'ingestion d'une trop grande quantité d'essence de thym peut être à l'origine non seulement de troubles gastro-intestinaux mais également d'une dépression du système nerveux central. Une dose forte de 6 g de thymol peut entraîner une intoxication grave à la suite de lésions du foie. Cette intoxication se caractérise par des troubles du fonctionnement de l'organisme se traduisant par une albuminurie et une hémoglobinurie. Enfin, l'utilisation prolongée de thymol est quelquefois à l'origine d'une intoxication de la glande thyroïde. Dans un système de test de mutagénicité avec *Salmonella typhimurium*, l'huile de thym n'a montré aucune activité mutagène ni endommageante d'ADN [227, 230].

*IV.II.3. LE GENRE *Origanum**

Le genre *Origanum* (Lamiaceae) comprend 39 espèces largement réparties dans la région méditerranéenne. L'espèce *Origanum vulgare* prédomine, alors qu'*Origanum dictamnus* est endémique de l'île de Crète dans le sud de la Grèce. Les plantes sont des herbes vivaces qui poussent spontanément dans des substrats calcaires [231].

L'une des caractéristiques morphologiques importantes des plantes *Origanum* est la présence des poils glandulaires nombreux sur les organes végétatifs (tiges, feuilles, bractées), tandis que leur densité se réduit sur les organes reproducteurs (calices, corolles). Les poils glandulaires sécrètent une huile essentielle avec une odeur très caractéristique, principalement due aux principaux composants de l'huile, les monoterpènes : carvacrol et le thymol [231].

IV.II.3.1. L'ESPÈCE « *Origanum vulgare* L. »

## IV.II.3.1.1. Position systématique / taxonomie

## ✓ Classification APGIII (2009)

Tableau 6 : Classification APGIII (2009) de l'Origan vulgare «*Origanum vulgare* » [184].

<b>Embranchement</b>	<b>Spermaphytes</b>
<b>Sous-</b>	<b>Angiospermes</b>
<b>Classe</b>	<b>Eudicotylédones</b>
<b>Sous-classe</b>	<b>Astéridées</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Famille</b>	<b>Lamiaceae</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Origanum</i></b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Origanum vulgare</i></b>
<b>Sous espèce</b>	<b><i>Vulgare, Glandulosum, Hirtum, Gracile, virens, Viride</i></b>



Figure 51 : Origan italien [231].

## ✓ Noms vernaculaires :

Tableau 7 : Liste des noms vernaculaires d'*Origanum vulgare* (*O.vulgare*)

<b>Noms français</b>	- Origan vulgaire - Marjolaine sauvage
<b>Noms anglais</b>	- Wild Marjoram - Oregano
<b>Noms arabes</b>	- الزعتر (Za'tar)

On sait que les sous-espèces ont une différente composition en huile essentielle. Cette variabilité est fortement liée à son origine géographique [231, 232].



Figure 52 : Dessin d'origan vulgaire [235].



*IV.II.3.1.2. Description botanique*

Plante herbacée vivace, de 30 à 90 cm de haut ; rhizome horizontal et rampant [233, 234].

*IV.II.3.1.2.1.Appareil végétatif*

- **Les tiges**

Rhizome horizontal, rampant ; tiges dressées, ligneuses à la base, ramifiées, quadrangulaires, velues, souvent violet ou vert violacé [233, 234].

- **Les feuilles**

Feuille de 4 à 12 mm de long et jusqu'à 3 mm de large ; il est sessile ou à un très court pétiole. Le limbe est dur, entier, lancéolé à ovale, couvert sur les deux surfaces par un indumentum gris à gris verdâtre ; la nervure médiane est déprimée et très proéminent sur la surface abaxiale [233, 234].



**Figure 53 : Feuilles d'Origan vulgaire [236].**

*IV.II.3.1.2.2. Appareil reproducteur*

- **Les fleurs**

- ✓ Inflorescence

Inflorescence semblable à un corymbe aux sommets des branches. Des fleurs de type labié, généralement bisexuées, parfois seulement des fleurs femelles avec des stigmates immatures, zygomorphes, à pédoncule court [243, 244].

- ✓ Périclype

- Bractées elliptiques, pointues, plus longues que le calice et de couleur foncées violet.



**Figure 54 : Fleurs d'Origan vulgaire [236].**

- Calice : généralement à 5 lobes, sépales triangulaires lancéolé, à 13.
      - Nervures : d'environ 3 mm de long, avec un anneau poilu à l'intérieur.
      - Corolle : du rose au violet à blanc, d'environ 6 mm de long [233, 234].

✓ Androcée  
4 Étamines, avec double anthères. Pistil, stigmate bifide et réfléchi [233, 234].

✓ Gynécée  
L'ovaire est formé par deux carpelles soudés et il est sans poils. La placentation est axile. Les ovules sont au nombre de quatre. Le style est inséré à la base de l'ovaire ; il est filiforme et plus long que les étamines [233, 234].

- **Le fruit**

Il s'agit de noix, ronds à ovales, en calice persistant, sec, lisse, brun foncé et de 0,5 à 1 mm de long [236, 237].



Figure 55 : Fruits d'*Origan vulgaire* [237].

#### IV.II.3.1.3. Répartition géographique et Origine

Parmi les trente-neuf espèces incluses dans le genre *Origanum* ; *O. vulgare* L. est la seule espèce qui a de loin la plus large distribution. Elle se trouve dans toute la région méditerranéenne principalement dans la partie sud des Balkans Péninsule et en Turquie, dans la région Iranienne et dans la plupart des Région euro-sibérienne. Introduit comme plante culinaire, il se rencontre également dans l'Amérique du nord [238].

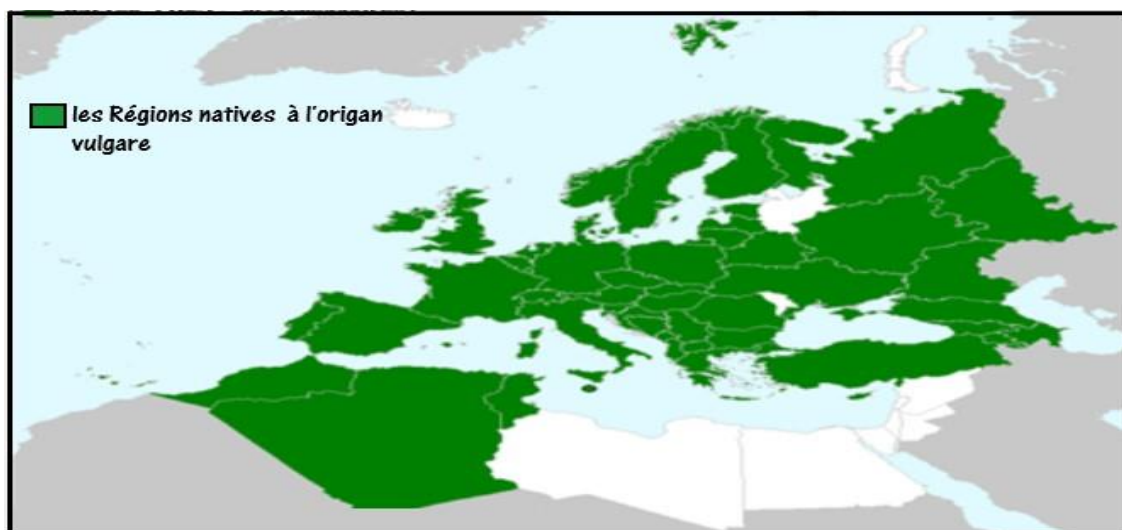


Figure 56 : Répartition géographique d'*Origanum vulgare* [239].



#### *IV.II.3.1.4. La partie utilisée (drogue)*

##### *IV.II.3.1.4.1. Nature de la drogue*

Feuilles et fleurs séchées séparées des tiges d'*Origanum vulgare* L. [233].



**Figure 57 : Feuilles d'Origan vulgaire à l'état frais et à l'état sec [240].**

##### *IV.II.3.1.4.2. Production de la drogue*

L'origan est originaire de la Méditerranée et étroitement lié à la marjolaine. Son piquant est en proportion direct avec la quantité de soleil qu'il reçoit. Sa grandit à une hauteur d'environ 20 cm. La plante protège les sols inclinés, et il est assez tolérant au froid et à la sécheresse. Pendant l'hiver, les parties aériennes sont détruites, mais les racines conservent leur vitalité pour la végétalisation au printemps. L'origan pousse sur des sols moyens et dans les zones à haute altitude et à été frais [241].

##### *IV.II.3.1.4.3. Récolte et Conservation*

- **Récolte**

La récolte des feuilles et des extrémités des tiges doit commencer lorsque les plantes sont en stade de floraison, commençant à 10 cm du sol. La saveur s'améliorera après la floraison [243].

- **Conservation**

Les feuilles doivent être séchées dans un endroit chaud, sec et ombragé et stockées dans un conteneur hermétique [242].

##### *IV.II.3.1.4.4. Caractères botaniques de la drogue*

- **Aspects organoleptiques**

Odeur : aromatique ; goût : légèrement amer, épicé et astringent [234].

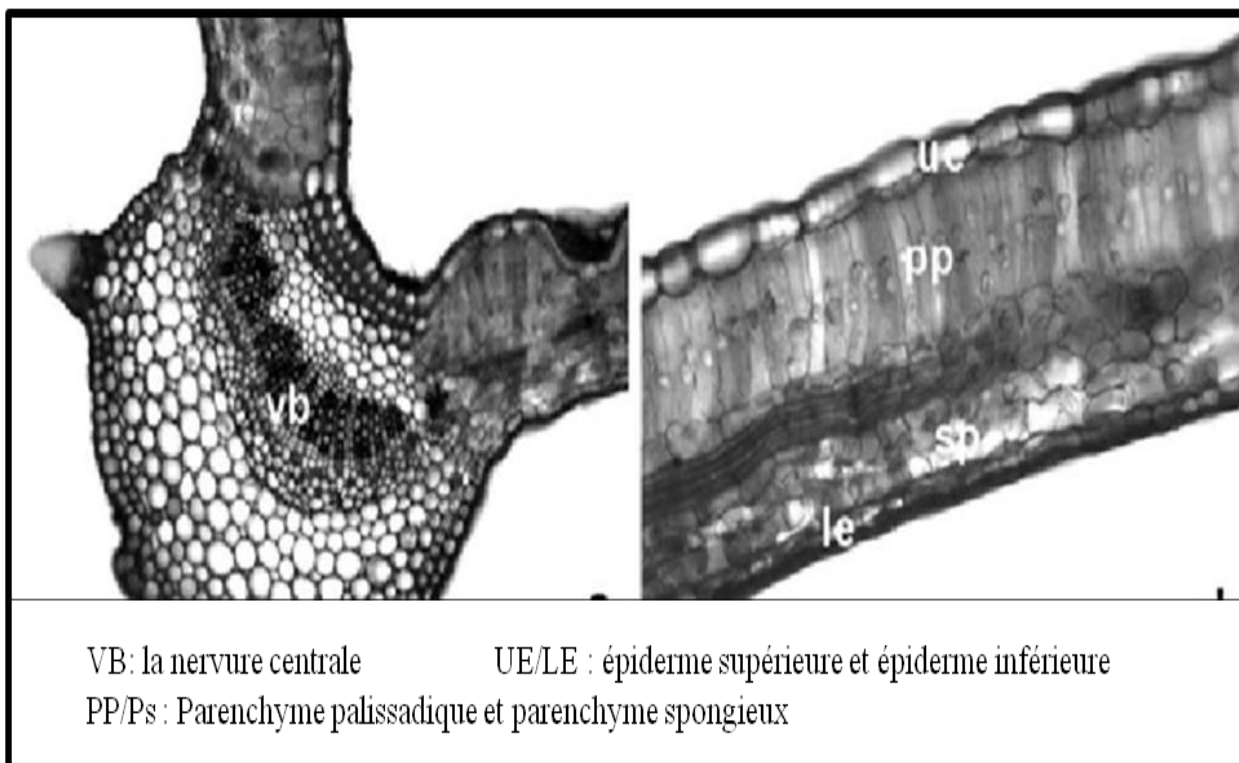
- **Aspects macroscopiques**

La feuille d'*O. Vulgare* est de forme ovale, pétiolée, avec une marge dentelée. La pubescence est composée de poils glandulaires qui sont uniformément répartis et leur nombre ainsi que leur taille sont plus élevés sur la face supérieure des feuilles ; on note aussi des poils non glandulaires unisériés multicellulaires.

- **Aspects microscopiques**

*Coupes histologiques*

- Les cellules de l'épiderme foliaire sont sinueuses, avec des parois irrégulièrement épaissies. L'épiderme est recouvert d'une fine cuticule ;
- Des stomates diacytiques plus fréquents sur l'épiderme inférieur ;
- Des trichomes simples et glandulaires sur les deux épidermes, prépondérante sur celle du bas. Les trichomes simples sont courbes, pointus, de 1 à 5 alvéoles, rugueux. Ainsi que des trichomes glandulaires à pied de 1 à 3 cellules et tête unicellulaires ;
- Des glandes sécrétoires sont de 8 à 12 cellules ; réparties principalement sur la face inférieure. Pétiole à cellules épidermiques isodiamétriques ou rectangulaires ; tissu de collenchyme dans les coins et en partie sous-jacent d'épiderme supérieur et inférieur ; faisceau vasculaire central [234].

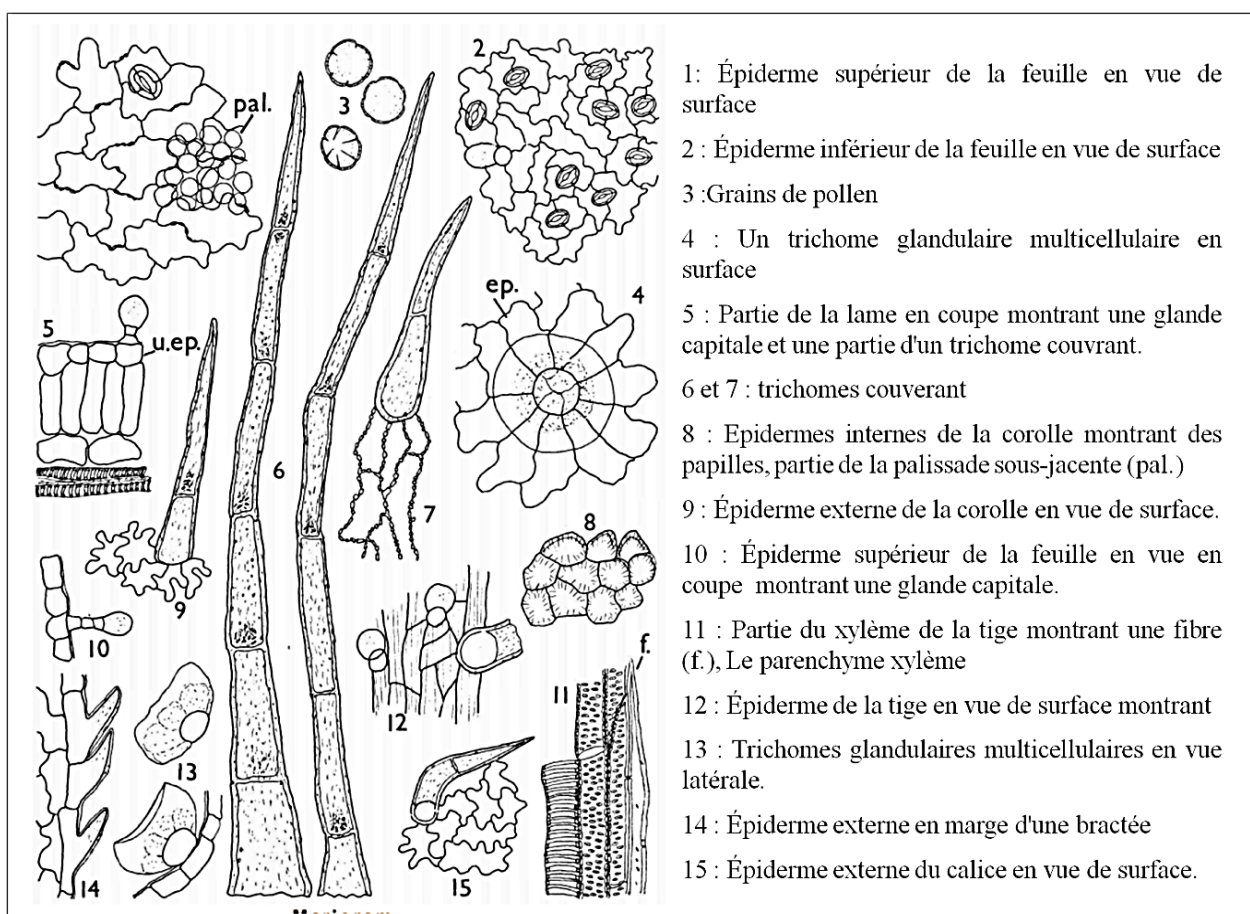


**Figure 58 : Coupe histologique de la feuille d'Origan vulgaire [244].**

## ✓ Poudre

La poudre est de couleur verte ; examiner au microscope on note la présence de :

- Des trichomes de type lamiacée, courts, unicellulaires et rarement coniques ;
- Des trichomes coniques qui ont la forme de dents pointues, à paroi épaisse et contiennent des aiguilles minuscules. La cuticule couvrant les trichomes est verruqueuse ;
- Les épidermes des feuilles ont des cellules à parois sinueuses, stomates diacytique et les cellules de l'épiderme supérieur sont souvent perlées ;
- Des trichomes sécrétoires avec 8 à 12 cellules ; les trichomes glandulaires sont rares, ils ont une tête unicellulaire et tige bicellulaire ou tricellulaire ;
- Les grains de pollen sont lisses, sphériques et abondant. [231, 245, 246].

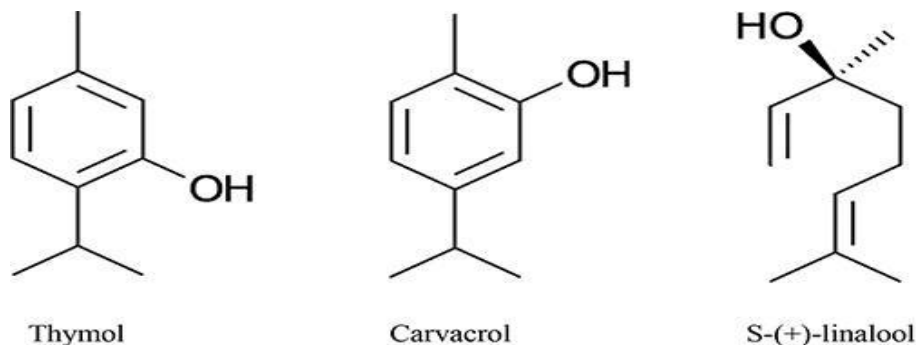


**Figure 59 : Dessin des éléments microscopiques caractéristiques de la poudre de feuilles d'origan vulgaire [245].**

#### IV.II.3.1.4.5. Composition chimique

L'origan contient 0,15–1,2% d'huile essentielle. Ces principaux composants sont : le carvacrol (40–70%), le  $\gamma$  – terpinène (8–10%), le p-cymène (2,80–10,00%), ainsi que l' $\alpha$ -pinène, le myrcène, le thymol, l' $\alpha$ -terpinène, le linalol, l'estragole, l'eugénol et le  $\beta$ -ocimène.

Il existe également des souches qui contiennent du thymol, linalol avec du terpinène-4-ol, linalol,  $\beta$ -caryophyllène, germa crène D et sabinène comme composants principaux [234, 247].



**Figure 60 : Structure de quelques composés terpéniques majoritaires d'Origan vulgaire [247].**

L'extrait hydro-alcoolique contient des flavonoïdes (naringine, lutéoline-7-glucoside, diosmétine-7-glucoside et apigénine-7-glucoside), l'acide rosmarinique (environ 5%) et d'autres esters phénoliques ; des tanins sont également présents [234, 247].

#### IV.II.3.1.4.6. Propriétés pharmacologiques

##### ➤ Antibactérienne

Des études récentes d'activités antimicrobiennes d'*O.vulgare* ont montré que cette activité est importante contre 10 bactéries et 15 champignons et une espèce de levure testés, qui est due principalement aux composants aromatiques le carvacrol et le thymol [231, 241, 248].

##### ➤ Antifongique et antiparasitaire

L'extrait aqueux d'éthanol (1:1) de la plante entière séchée a démontré une faible activité antifongique ; l'huile essentielle des parties aériennes de la plante a montré un fort effet antifongique contre *Gloeosporium album*, *Phytophthora nicotianae*, *Botrytis cinerea*, *Helminthosporium teres*, *Monilia laxa* et *Phytophthora infestans*, *Cryptococcus neoformans*.

Il existe des rapports sur l'activité antiparasitaire d'huile essentielle d'origan européen (*Origanum vulgare*) contre *Blastocystis hominis*, *Entamoeba harmanni* et *Endolimax nana* et *Giardia intestinalis* [231, 248].

##### ➤ Antiviral

Un extrait aqueux à 10% des parties aériennes de la plante a démontré un effet antiviral en culture cellulaire contre le virus de l'herpès simplex (HSV-2), l'influenza virus A2 et le virus de la vaccine [231, 248].

➤ **Propriétés insecticides**

L'huile essentielle des parties aériennes de la plante a provoqué une stérilité complète chez *Dysdercus koenigii*, et une application topique de l'huile a démontré des propriétés insecticides contre *Drosophila auraria* adultes, œufs et larves [231].

➤ **Propriétés anti-inflammatoires**

L'extrait au méthanol de feuille d'*Origanum* appliqué à l'extérieur sur des souris a présenté des effets anti-inflammatoires chez les animaux souffrant d'inflammation de l'oreille induit par le 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate.

Le traitement des cellules activées avec des extraits d'origan supercritiques S1 et S2 entraîne une réduction globale de la libération de cytokines : TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  IL-6 dose dépendante. Au contraire, la sécrétion d'IL-10 a augmenté après le traitement avec l'un des extraits d'origan utilisés. D'une autre part, un meilleur effet anti-inflammatoire que l'indométacine diminuant d'avantage les cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$  et IL-1 $\beta$ ) et induisant une libération anti-inflammatoire de l'IL-10 qui n'a pas été observée avec l'indométacine.

Les usages de l'huile essentielle d'origan ont montré une activité antiproliférative significative sur les cellules fibroblastiques dermiques [231, 249, 250].

➤ **Analgésique**

De nombreux rapports indiquent que l'extrait aqueux d'*Origanum vulgare* a présenté des activités antinociceptives nettement centrales d'une manière dépendante de la dose chez le rat par le test au formol et à l'aide du test du coup de queue.

Récemment, il a été démontré que le carvacrol peut diminuer l'hypernociception avec un effet inhibiteur sur les prostaglandines. Carvacrol a présenté une activité analgésique comparable au benzocaïne.

L'origan est également une source importante d'acide rosmarinique. Bien que certains chercheurs aient montré que l'acide rosmarinique ne pouvait pas affecter la réponse nociceptive, mais d'autres chercheurs ont montré que ce composé antioxydant peut produire un effet analgésique dans le cerveau.

Des études récentes ont démontré que le bornéol a des effets analgésiques en augmentant l'activité des récepteurs GABA [251, 252].

➤ **Antioxydante**

Les extraits d'origan ont une teneur en polyphénols souvent très élevés mais à des différentes propriétés antioxydantes. Ils se sont avérés efficaces dans la prévention de toutes les phases du processus peroxydant [248, 253].

➤ **Antihyperglycémiant**

Les extraits d'Origan ont montrées une inhibition plus ou moins efficace de l' $\alpha$ -amylase lié à la présence de : flavonoïdes, polyphénols, l'acide rosmarinique et d'autres composés phénoliques tels que le carvacrol et les acides phénoliques.

De plus, L'extrait aqueux de feuilles séchées d'*Origanum vulgare* présentait une activité antihyperglycémiant in vivo lorsqu'elle est administrée à des rats par voie intragastrique, et également des effets potentialisateurs de l'insuline in vitro [231, 254].

➤ **Antimutagène**

Les extraits aqueux et méthanoliques de feuilles séchées et fraîches d'*Origanum vulgare* ont montrés une activité antimutagène due principalement au carvacrol dans un modèle in vitro contre la mutagénèse induite par le 3-amino-1-méthyl-5H-pyrido [4,3-b] indole ainsi que la mutagénicité induite par la 4-nitro-o-phénylènediamine et le 2-amino-fluorène. L'extrait d'origanum avait une puissante protection contre les dommages à l'ADN [234, 255].

*IV.II.3.1.4.7. Indications thérapeutiques et Formes d'emplois*

• **Indications thérapeutiques**

*Origanum vulgare* a été utilisé dans le traitement de :

- Troubles des voies respiratoires (agents expectorants et spasmolytiques) ;
- Troubles gastro-intestinaux (comme agents cholérétiques, digestifs, eupeptiques et spasmolytiques) ;
- Comme antiseptique orale ;
- Troubles des voies urinaires (comme diurétiques et antiseptiques) ;
- Affections dermatologiques (soulagement des démangeaisons, des croûtes cicatrisantes, des piqûres d'insectes) ;
- Rhumatisme, maux de tête, anxiété ; également comme emménagogue, cardiotonique et sédatif [234, 256].

• **Formes d'emplois**

- ✓ **Usage interne** : les plus courantes sont

- **Infusion** : une cuillère à soupe d'infusion (10 g de poudre séchée dans 200 ml d'eau bouillante pendant 15 à 20 minutes) trois fois par jour avant repas.
- **Teinture** : 1 ml d'une teinture (10 g d'herbe séchée dans 150 ml 70% éthanol) trois fois par jour [231].

✓ **Usage externe**

En compresse, cataplasme ou en gargarisme : ajoutez 20 à 30 g d'herbe à 200 ml d'eau bouillante pour une application directe et en cas de signes de réactions d'hypersensibilité qui apparaissent, l'origan ne doit plus être utilisé [231].

*IV.II.3.1.4.8. Interactions, effets indésirables et toxicité*

➤ **Interactions**

L'injection intrapéritonéale de baclofène, a augmenté de manière significative l'effet analgésique de l'administration intracérébroventriculaire de l'extrait d'origan.

L'huile essentielle *d'origan vulgare* et leurs constituants individuels Carvacol et Thymol améliorent les effets inhibiteurs de la tétracycline.

Il existe des preuves in vitro de l'inhibition des CYP2C9, 2C19, 2D6, 3A4/19 et p-gp4 par l'origan [251, 257, 258, 259].

➤ **Effets indésirables**

L'huile essentielle d'origan n'est jamais appliquée localement sur les muqueuses à des concentrations supérieures à 1%, en raison de l'effet irritant possible sur la peau et même un éventuel effet de brûlure. La même précaution devrait également être prise avec des personnes qui ont des peaux endommagées, ainsi qu'avec des enfants de moins de deux ans et pendant la grossesse, également les patients atteints de gastrites, d'ulcères gastroduodénaux et d'autres maladies inflammatoires de l'intestin, maladie du foie, épilepsie, maladie de Parkinson ou autres dysfonctionnements neurologiques en raison de leurs effets neurotoxiques et convulsifs potentiels [251, 260].

➤ **Toxicité**

Le carvacrol et le thymol à des doses thérapeutiques, sont bénéfiques durant une courte période de temps, mais ils peuvent être toxiques pour le foie, les reins et le système nerveux s'ils sont pris en excès. De plus la toxicité de l'huile essentielle d'*O.vulgare* administrée par voie orale et avec des applications intravaginales a été démontrée chez les femelles adultes des rats wistar.



L'huile essentielle peut être considérée comme sûre, lorsqu'elle est utilisée correctement et jamais être prise en interne ; et à propos des applications topiques, ces dernières devraient être effectuées après dilution dans une huile de support appropriée, et à faibles doses sur une courte période de temps.

Les résultats d'études, ont démontré que l'huile essentielle de *l'origanum vulgare* agit directement sur les organes sexuels, réduisant ainsi leur poids et cause des lésions tissulaires importantes au niveau des testicules. À la dose la plus élevée, ces changements peuvent être associés à des troubles métaboliques, comme les niveaux de la testostérone qui est généralement diminuée, réduction de la concentration du sperme, et une production de gamètes anormaux. Il peut également causer un changement dans les fonctions des cellules de Leydig ainsi que des réactions locales du système immunitaire considérées comme des effets indirects entraînant une diminution de la fertilité [260, 261].

### IV.III. EUCALYPTUS « *Eucalyptus globulus* L.»

#### IV.III.1. FAMILLE DES MYRTACEAE

##### IV.III.1.1. Présentation

Cette famille à distributions principalement tropicales tempérées du sud mais avec une représentation relativement faible dans la région africaine. Elle comprend au total environ 142 genres et plus de 5500 espèces [262].



*Leptospermum scoparium*



*Acca sellowiana*



*Myrtus communis*

Figure 61 : Plantes de la famille des Myrtaceae [263].



### IV.III.1.2. Caractères botaniques

#### IV.III.1.2.1. Appareil végétatif

- *L'écorce*

Une écorce lisse qui tombe chaque année ; c'est apparemment un état de caractère plésiomorphe, dans les taxons capsulaires et non capsulaires [262].

- *Les feuilles*

Feuilles opposées, alternes (en spirale), rarement verticillées, simples, entières. Poils unicellulaires à parois épaisses [262].

#### IV.III.1.2.2. Appareil reproducteur

- *Les fleurs*

Fleurs axillaires hermaphrodites, principalement bisexuées, parfois unisexuées, à prédominance actinomorphe, 4–5 mères [179, 262, 264].

- *Les fruits*

Fruit sec, souvent en capsules indéhiscentes, ou en baie charnue à nombreuses graines [179, 264].

#### IV.III.1.2.3. Chimie de la famille

La présence de glandes sébacées qui produisent des huiles essentielles est l'une des caractéristiques de la famille des Myrtacées. Les HEs sont généralement dominés par les monoterpènes ou sesquiterpènes, mais sont souvent un mélange des deux, avec des triterpènes, généralement en petites quantités. Plus rarement, il peut y avoir une présence importante de b-tricétones, de dérivés alkyles et / ou quelques composés aromatiques [262].

### IV.III.2. LE GENRE *Eucalyptus*

Le genre *Eucalyptus* comprend près de 800 espèces, endémiques d'Australie, à l'exception d'une dizaine présente dans la partie orientale de l'Asie du Sud-Est. De nombreuses espèces d'*Eucalyptus* sont cultivées en dehors de leur aire naturelle, dans des régions tropicales, subtropicales et tempérées, en raison de la rapidité de leur croissance et de leur capacité d'adaptation à des conditions écologiques très variées.

En Afrique, l'*Eucalyptus globulus* est longtemps restée la principale espèce d'*Eucalyptus*, et même si elle a cédé du terrain, elle n'en demeure pas moins très présente sous des climats frais. De nos jours, les principales espèces commerciales en Afrique sont : *Eucalyptus grandis* dans les endroits

fertiles, *Eucalyptus camaldulensis* dans les régions sèches, et *Eucalyptus robusta* dans les régions plutôt tropicales.

Sensu lato, *Eucalyptus globulus* compte quatre taxons très proches que l'on considère souvent comme des sous-espèces, mais qui pour certains auteurs sont des espèces à part entière. Ici, c'est le premier point de vue qui est suivi et on distingue les sous-espèces suivantes :

- Subsp. *globulus* ("Tasmanian blue gum")
- Subsp. *bicostata* (Maiden, Blakely & Simmonds) J.B.Kirkp. ("Southern blue gum).
- Subsp. *pseudoglobulus* (Naudin ex Maiden) J.B.Kirkp. ("Victorian eurabbie")
- Subsp. *maidenii* (F.Muell.) J.B.Kirkp. ("Maiden's gum") [264].

#### IV.III.3. L'ESPÈCE « *Eucalyptus globulus* Labill. » (*E.globulus*)

##### IV.III.3.1. Position systématique/taxonomie

##### ✓ Classification APGIII (2009)

Tableau 8 : Classification APGIII (2009)  
d'*Eucalyptus* «*Eucalyptus globulus* L. » [184].

Embranchement	Spermaphytes
Sous- Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Rosidées
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacée
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i> <i>Labill</i>
Sous espèce	<i>E. globulus</i> L. <i>bicostata</i>



Figure 62: *Eucalyptus globulus*  
[266].

## Noms vernaculaires

Tableau 9 : Liste des noms vernaculaires  
d'*Eucalyptus globulus* L. [265].

Noms français	- Eucalyptus
	- Gommier bleu
	- Eucalyptus globuleux
Noms anglais	- Southern Blue gum
	- Tasmanian
	- Blue gum tree
Nom arabe	- الكاليتوس

Figure 63 : Dessin d'*Eucalyptus globulus* [267].

## IV.III.3.2. Description botanique

C'est l'une des espèces les plus cultivées dans le monde. Typiquement, c'est un grand arbre, dressé forestier à écorce généralement lisse [265].

## IV.III.3.2.1. Appareil végétatif

- L'écorce

Caducque se décortiquant lors de chaque renouvellement d'assise en longues lanières [268].

- Les feuilles

Feuilles alternes, retombantes, simples et entières ; stipules absentes ; pétiole arrondi, sillonné ou aplati, de 1,5–5 cm de long ; limbe étroitement lancéolé à lancéolé, quelquefois falciforme, de (10–30) cm de long et (1–4) cm de large, acuminé à l'apex, coriace, glabre, aromatique lorsqu'on le froisse [278].

Figure 64 : Feuilles d'*Eucalyptus globulus* [269].

#### IV.III.3.2.2. Appareil reproducteur

- **Les fleurs**

Principalement bisexuées, parfois unisexuées, à prédominance actinomorphe, 4–5-mères (très rarement 6–12-mères) [189, 274, 278].

- ✓ **Périanthe**

- L'hypanthe présent, fondu à des degrés divers par rapport à l'ovaire ; sépales libres, occasionnellement fusionnés dans un calice, imbriqué, principalement persistant ;



**Figure 65 : Fleurs d'*Eucalyptus globulus* [270].**

- ✓ **Corolle**

Pétales imbriqués, généralement distincts et caduc, parfois persistant, parfois fusionnés dans le cadre d'un calice, parfois cohérent et tombant comme une unité à l'anthère [179, 264, 268].

- ✓ **Androcée**

Étamines habituellement multisériés, nombreux et libres, parfois en grappes ou fusionnés, anthères dorsifixé et polyvalent, déhiscence par fentes [179, 264, 268].

- ✓ **Gynécée**

Ovaire généralement inférieur au demi-supérieur avec (1–5) carpelles, placentation pariétale, axile ou basale, terminale de style et de stigmatisation petite ou capitale ; ovules (2 – plusieurs), anatropes, hémitropes ou campylotropes, avec deux téguments [179, 264, 268].

- ✓ **Inflorescence**

Condensée et réduite, axillaire, simple, ombelliforme, portant 1–7 fleurs ; pédoncule aplati ou arrondi, jusqu'à 25 mm de long [179, 264, 268].



• **Le fruit**

Capsule obconique à globuleuse de 5–21 mm × 6–24 mm, incluse dans un hypanthium ligneux, s’ouvrant par 3–5 valves, glauque ou non ; à nombreuses graines de 1–3 mm de long, plantule à germination épigée [268].



Figure 66 : Fruits d'*Eucalyptus globulus* [269].

**IV.III.3.2.3. Répartition géographique et Origine**

L'eucalyptus, en particulier *E. globulus*, a été introduit avec succès dans le sud de l'Europe, en Algérie, en Égypte, à Tahiti, en Afrique du Sud et en Inde ; il a été largement planté en Californie et également, dans le but de réduire la responsabilité en cas de sécheresse, le long de la ligne du Central Pacific Railway.

Il prospère dans n'importe quelle situation, ayant une température annuelle moyenne non inférieure à 60 degrés F., mais ne supportera pas une température inférieure à 27 degrés F., et bien que de nombreuses espèces d'Eucalyptus fleurissent à l'extérieur dans le sud de l'Angleterre, ils sont généralement cultivés, dans ce pays, en pots comme plantes de serre [268].

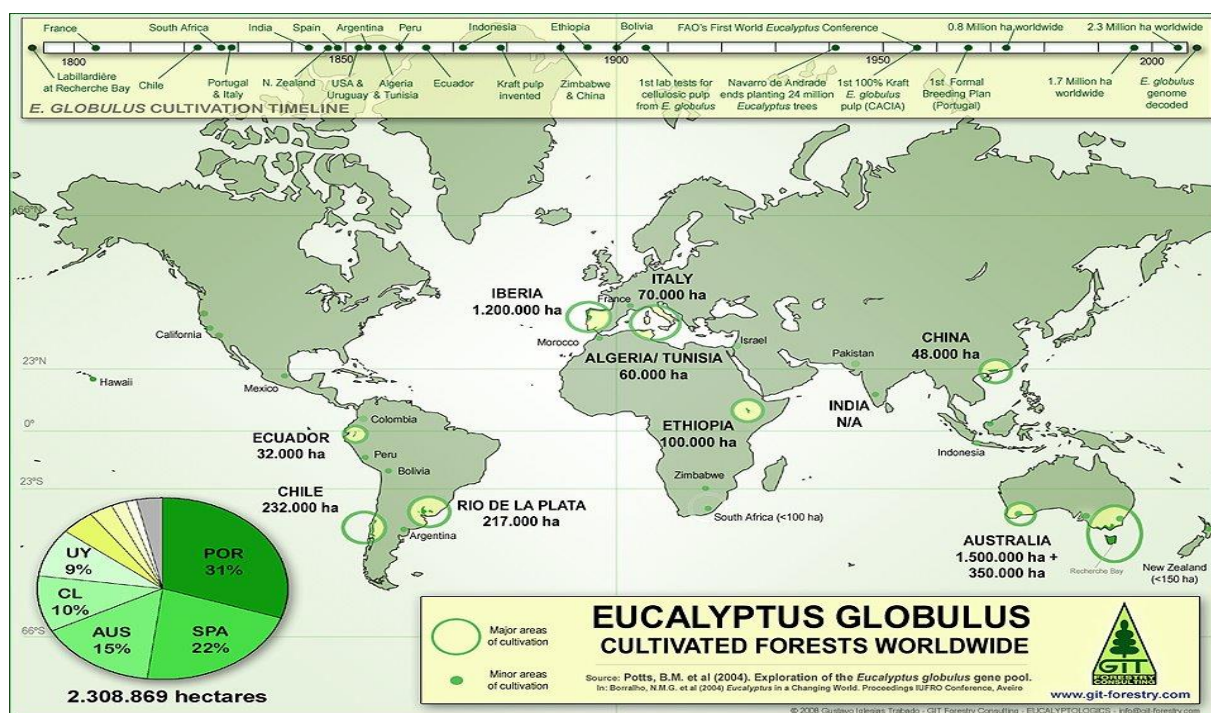


Figure 67 : Répartition géographique du genre *Eucalyptus* dans le monde [270].

#### IV.III.3.2.4. La partie utilisée

##### IV.III.3.2.4.1. Nature de la drogue

Feuille séchée, entière ou coupée, récoltée sur les rameaux plus âgés d'*Eucalyptus globulus*. [189].



**Figure 68 : Feuilles sèches et fraîches d'*Eucalyptus globulus* [271].**

##### IV.III.3.2.4.2. Production de la drogue

Les eucalyptus poussent sur des sols à faible valeur nutritive, riches en fer et en aluminium, et généralement acide ; ils préfèrent les sables et les sols limoneux de précipitations annuelles et ne survivent pas à des épisodes sévères ou prolongés de températures inférieures à zéro [272].

##### IV.III.3.2.4.3. Récolte et Conservation

- **Récolte**

Feuilles adultes récoltées entre les mois de mars et mai [273].

- **Conservation**

Les feuilles fraîchement récoltées d'*E.globulus* doivent être séchées à environ 10%, à l'abri d'air et de lumière [274].

##### IV.III.3.2.4.4. Caractères botaniques de la drogue

- **Aspects organoleptiques**

- Odeur : aromatique, camphrée ;
- Goût : piquant, suivi d'une sensation de froid [179].

- **Aspects microscopiques**

- **Coupes histologiques**

- **Lamina**

- ✓ **Épiderme supérieur**

Il se compose d'une seule couche de petites cellules parenchymateuses rectangulaires avec des parois anticlinales droites et cuticule épaisse [275].

✓ **Mésophylle** : Il peut être différencié en palissade et en parenchyme spongieux :

○ **Palissade supérieur**

Il se compose de deux à cinq couches de petites cellules compactes. Cette région montre souvent de grandes glandes sébacées schizogènes sous-globulaires à ovoïdes vers l'épiderme [275].

○ **Parenchyme spongieux**

Il est composé de trois à cinq couches de parenchyme avec cellules irrégulièrement disposées. Ces cellules sont projetées en direction de la palissade. Des prismes et clusters d'oxalate de calcium se trouvent près des fibres des veines [275].

○ **Palissade inférieur** : Il ressemble à la palissade supérieure.

✓ **Épiderme inférieur** : Il est identique à l'épiderme supérieur.

➤ **Midrib**

La nervure médiane présente des surfaces dorsales et ventrales uniformes. Il apparaît aussi légèrement biconvexe. Les épidermes continuent avec la lame. Les tissus suivants sont également observés dans la région de la nervure médiane :

✓ **Collenchyme** : Deux à trois rangées de cellules celluloseuses à parois épaisses sont observées sous l'épiderme supérieur et au-dessus de l'épiderme inférieur.

✓ **Faisceaux vasculaires** : Il occupe la majeure partie de la nervure médiane. Il apparaît au centre et en forme d'arc. Deux petits faisceaux vasculaires sont également visibles vers la surface dorsale. Les prismes et les rosettes d'oxalate de calcium sont vus dans la région de la nervure médiane [275].

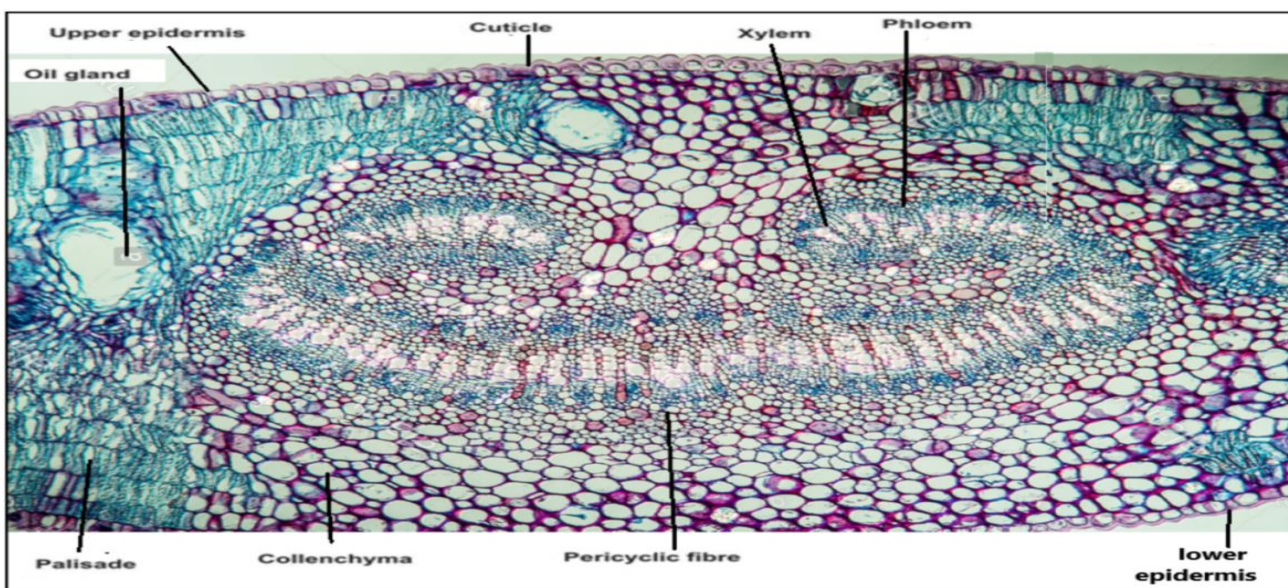


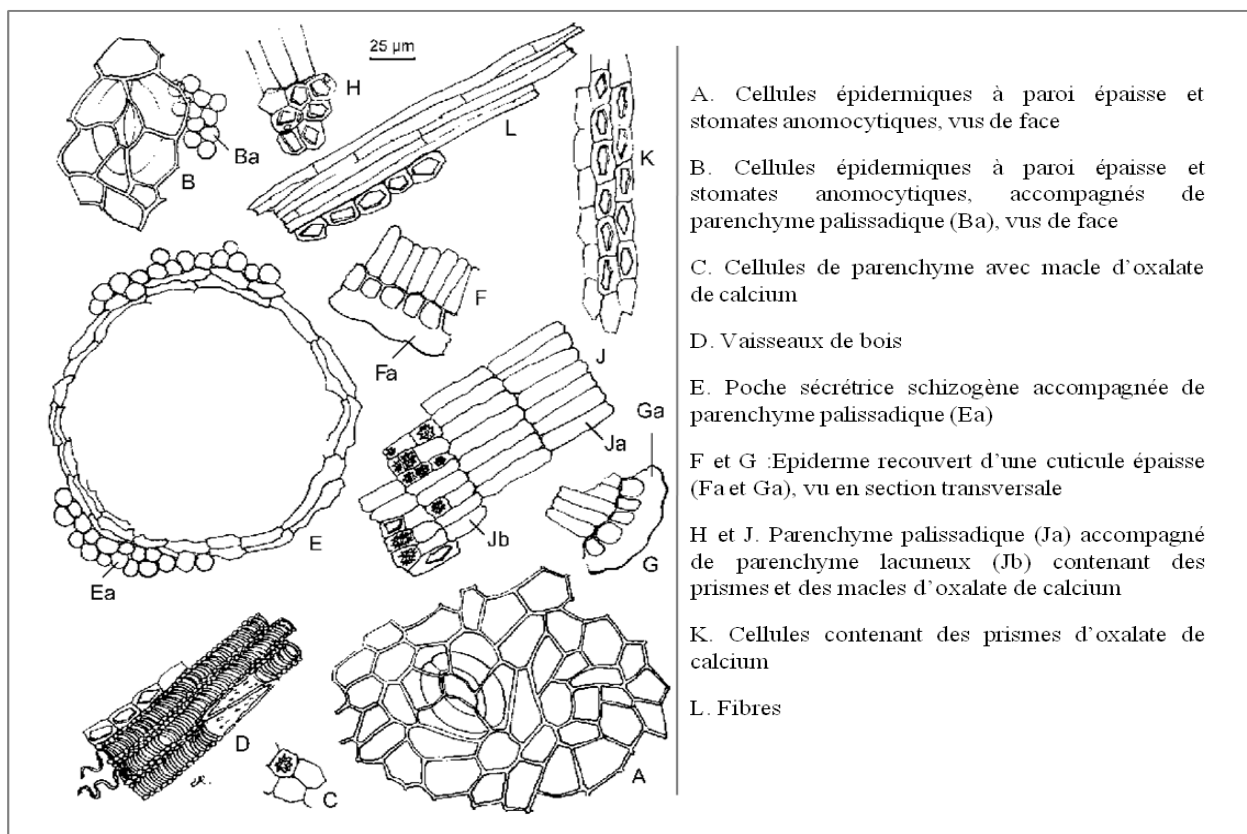
Figure 69 : Aspect microscopique d'une coupe histologique de la feuille d'*Eucalyptus globulus* [276].



- **Poudre**

La poudre de feuille d'eucalyptus est de couleur vert jaunâtre à brun clair, l'odeur est caractéristique et le goût est légèrement piquant. Les caractères suivants sont vus au microscope :

- **Épiderme** : Les cellules apparaissent polygonales, parenchymateuses et à paroi droite avec une cuticule épaisse ;
- **Stomates** : De nombreux stomates anomocytaires sont observés sur les épidermes supérieurs et inférieurs. Ceux-ci sont nombreux, saillants, enfoncés et bien développés ;
- **Cristaux d'oxalate de calcium** : On observe des rosettes et des cristaux prismatiques d'oxalate de calcium dispersés dans la poudre ;
- **Fibres péricycliques** : Celles-ci sont lignifiées, isolées ou en petits groupes et ont des extrémités effilées ;
- **Vaisseaux de Xylème** : De nombreux fragments de vaisseaux spiralés, annulaires ou réticulés sont visibles [275].



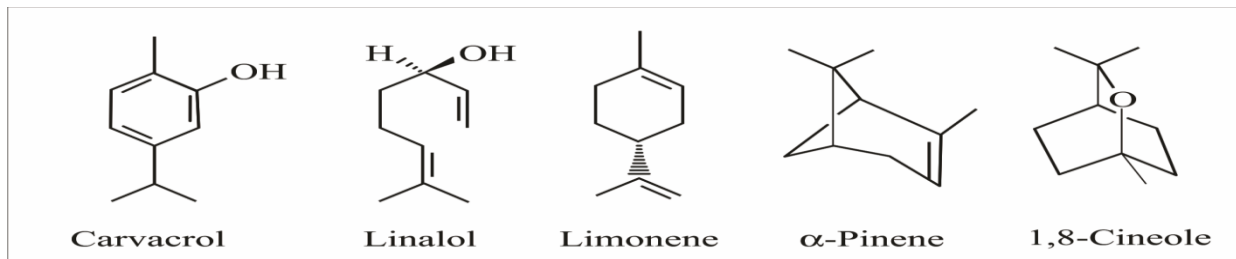
**Figure 70 : Dessin des éléments microscopiques caractéristiques de la poudre de feuilles d'*Eucalyptus globulus* [189].**

#### IV.III.3.2.4.5. Composition chimique

Les feuilles séchées contiennent 1 à 3,5% d'huile volatile. Cette huile contient comme constituant majeur du 1,8-cinéole (54 à 95)% ; et on trouve également :



- Les monoterpènes : le cymène, l' $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinene, sabinène, phéllandrène, limonène, camphre,  $\alpha$ -gurjunene, globulol, pipertone,  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -terpinen et allo-aromadendrene, le pinocarveol, l'aldéhyde aliphatique, L' $\alpha$ -terpinéol.



**Figure 71 : Structure de quelques composés terpéniques majoritaires de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* [278].**

- Les flavonoïdes : la rutine, l'hyperoside et la quercitrine.
- L'acylphloroglucinol-monoterpène ou -sesquiterpène ; les dérivés du phloroglucinols.
- Les tanins : gallotanins et de plus petites quantités de procyanidines. La teneur en tanin peut dépendre des méthodes de séchage des feuilles [189, 277].

#### IV.III.3.2.4.6. Propriétés pharmacologiques

##### ✓ Antibactérienne

L'extrait de feuilles d'*Eucalyptus globulus* a montré une activité antibactérienne sur des cocci à Gram positif, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Salmonella enteritidis* [279].

##### ✓ Antifongique

Les huiles essentielles d'*E. globulus* ont montré une activité antifongique contre toutes les souches de *Candida* testées ; contre *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Dans l'ensemble, la meilleure activité antifongique était contre *C. glabrata* [279, 280, 281].

##### ✓ Antiviral

L'étude d'activité virostatique d'extraits d'eucalyptus a montré un effet inhibiteur pour *Herpes Hominis HVP75*, le virus grippal A2, le virus *Herpès simplex (HSV-1, HSV-2)* [277, 281].

##### ✓ Anti-inflammatoire

L'extrait de feuilles d'*Eucalyptus* présentait une capacité à piéger toutes les espèces réactives d'oxygène et d'azote.

Plusieurs études ont montrés que le 1,8-cinéole inhibe de manière significative le leucotriène (LTB<sub>4</sub>), des cytokines par une inhibition hautement significative et dose-dépendante de la production de TNF- $\alpha$ , d'interleukine-1 $\beta$ , de LTB<sub>4</sub>, IFN- $\gamma$  et de thromboxane-B<sub>2</sub>. Utilisant un modèle murin d'inflammation pulmonaire aiguë induite par les lipopolysaccharides ; l'eucalyptol a joué un rôle important dans la réduction de l'infiltration des macrophages et l'amélioration des lésions hépatiques induites par la d-galactosamine lipopolysaccharide [277, 279, 281].

#### ✓ **Analgésique**

Une dose unique de 1,8-cinéole par voie intra péritonéale a montré une activité antinociceptive comparable à celle de la morphine chez les rats Wistar mâles et les souris Swiss mâles [277].

#### ✓ **Antihistaminique**

Des extraits d'*E.globulus* à l'éthanol et à l'hexane ont été testés pour leur activité dans l'inhibition de la libération d'histamine à partir de cellules RBL-2H3 (lignée cellulaire de leucémie basophile de rat). Les deux extraits ainsi que l'HE de feuilles ont montré une activité inhibitrice d'environ 84 à 85% sur l'activité de libération d'histamine parallèle à l'inhibition des IgE [277, 281].

#### ✓ **Antioxydant**

Les activités antioxydantes des extraits de feuilles d'eucalyptus et de ses composés ont été évaluées par le test de peroxydation de l'acide linoléique, le test de génération de radicaux anion superoxyde et le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). L'acide gallique et l'acide ellagique isolés ont montré pour la majorité une activité antioxydante de l'extrait d'eucalyptus. Mais l'activité du 1,8-cinéole comme antioxydant était négligeable [277].

#### ✓ **Antidiabétique**

Selon plusieurs études in vitro, la décoction de feuilles d'eucalyptus dans l'eau de boisson ont considérablement réduit les concentrations de glucose plasmatique chez les souris diabétiques, et améliorer le transport et le métabolisme du glucose, son oxydation et son incorporation dans le glycogène ; d'autres études ont mis en évidence des effets supprimeurs d'appétit dans les études d'alimentation animale ; une stimulation de la sécrétion d'insuline ; une amélioration de l'absorption et de métabolisme du glucose musculaire dans les modèles animaux diabétiques [277, 281].

#### ✓ **Cytotoxique**

L'Eucalyptol pourrait être une alternative future de l'acide glycyrrhétique, qui est un promoteur anti-tumoral bien connu et utilisé pour son potentiel dans la chimiothérapie du cancer. Les macrocarpals obtenus à partir de l'huile d'*E.globulus* ont un effet inhibiteur sur le VIH-RTase. Les

huiles essentielles contenant de l'euglobal sont également utilisées dans l'induction de l'apoptose dans les cellules de leucémie myéloïde humaine [281].

#### IV.III.3.2.4.7. Indications thérapeutiques et Formes d'emplois

- **Indications thérapeutiques**

Depuis les temps anciens, l'écorce et les feuilles de diverses espèces *d'Eucalyptus* ont été utilisées comme médicaments pour le traitement de maladies telles que le rhume, la fièvre, les maux de dents, la diarrhée et les morsures de serpent. L'écorce en poudre a été utilisée comme insecticide en Afrique et une décoction de feuilles a été utilisée pour le traitement de rhume et de la bronchite au Venezuela, en Jamaïque et au Guatemala.

En Chine, les feuilles *d'E.globulus* ont été utilisées en interne pour le traitement de la grippe, la dysenterie, la douleur articulaire, l'amygdalite et la cystite ; et à l'extérieur pour une utilisation dans le traitement de dermatite, de gale, et de brûlures [265].

- **Formes d'emplois**

- ❖ **Voie interne**

- ✓ **Perfusions**

La posologie tolérée par la Pharmacopée Française est de : une jusqu'à quatre fois par jour, une tasse de tisane préparée avec 1,5 à 3 g de feuilles *d'Eucalyptus* dans 150 ml d'eau bouillante, et pour un temps de trempage de 10 à 15 minutes, et cela convient à la communauté de monographie à base de plantes [277].

- ✓ **Infusion**

L'infusion chaude peut également être utilisée en inhalation. Pour l'inhalant, la posologie varie de 2 à 3 g à dose unique jusqu'à 3 fois par jour [277].

- ✓ **Teinture**

Pour les teintures à usage oral, la posologie varie de 1 à 10 g par jour. Mais la posologie la plus citée est de 2,5 g de teinture de 1 à 4 fois par jour, ce qui correspond à 0,5 g de substance végétale en dose unique et 0,5 à 2 g de substance végétale par jour [277].

- ❖ **Voie externe**

En dosage quotidien : plusieurs gouttes ou 30 ml d'huile essentielle dans 500 ml d'eau tiède frottée sur la peau pour une application locale ; 5 à 20% d'huile essentielle dans des préparations liquides et semi-solides ; 5 à 10% dans les préparations hydroalcooliques [282].

- **Contre-indications**

Les préparations d'Eucalyptus ne doivent pas être administrées en voie interne aux patients présentant une inflammation du tractus gastro-intestinal, maladie de la vésicule biliaire ou altération de la fonction hépatique ; également pendant une grossesse [283].

- **Précaution**

Les préparations d'eucalyptus ne doivent pas être appliquées sur le visage, en particulier le nez des nourrissons ou des jeunes enfants [283].

#### IV.III.3.2.4.8. Interactions, effets indésirables et toxicité

- **Interaction**

Bien qu'aucune interaction médicamenteuse publiée n'ait été trouvée, un certain nombre d'études indiquent une préoccupation possible que l'huile essentielle puisse induire des enzymes hépatiques impliqués dans le métabolisme des médicaments. Par conséquent, les effets d'autres médicaments peuvent être diminués lors d'administration concomitante [283].

- **Grossesse**

La pénétration d'eucalyptol dans le placenta chez les rongeurs est possible et peut atteindre des concentrations dans le sang fœtal suffisantes pour stimuler l'activité enzymatique hépatique. Par conséquent, l'*E.globulus* ne doit pas être pris en voie interne pendant la grossesse [283].

- **Effets indésirables**

Les applications topiques d'*E.globulus* sont généralement non irritantes, non sensibilisantes et non phototoxiques. Cependant, un cas de toxicité systémique d'une fillette de 6 ans, et plusieurs cas d'urticaire, de dermatite de contact avec irritation de la peau ont été rapportés [283].

- **Toxicité**

Les études de toxicité rapportées chez le rat et la souris ont suggéré que la souris était moins sensible que le rat à la toxicité du 1,8-cinéole. Le cinéole administré sous forme encapsulée a montré une altération histopathologique du foie liée à la dose ; des reins et de la glande parotide à toutes les doses uniquement chez le rat mâle ; une hypertrophie minimale des hépatocytes centrilobulaires liée à la dose a été observée. Cela confirme l'hypothèse selon laquelle l'exposition au cinéole pendant toute la journée induit une réponse plus forte dans les tissus qu'une exposition quotidienne courte et unique [277, 283, 284].

# **DEUXIÈME PARTIE**

## ***PARTIE EXPÉRIMENTALE***

# **CHAPITRE V**

*ENQUÊTES*

*ETHNOPHARMACOLOGIQUES*

- **V.1. OBJECTIFS**

Le travail d'enquêtes ethnopharmacologiques de terrain a été mené pour deux objectifs

- Faire un inventaire des plantes les plus communément utilisées et conseillées en infectiologie respiratoire auprès des personnes en contact avec les plantes médicinales de la région d'étude ;
- Réunir le maximum d'informations relatives à l'utilisation des espèces les plus prisées par la population autochtone des zones d'étude dans le traitement des maladies d'infections respiratoires.

- **V.2. METHODOLOGIE DE L'ETUDE ETHNOPHARMACOLOGIQUE**

L'étude d'enquêtes ethnopharmacologiques a été menée à travers des campagnes d'enquêtes de 2017 à 2019 auprès des personnes en contact avec les plantes médicinales (population, herboristes, guérisseurs traditionnels,...), à travers toutes les localités d'étude. Elle a été réalisée avec l'aide d'enquêteurs (au nombre de 16 enquêteurs), essentiellement des étudiants en pharmacie dans le cadre de leur mémoire de fin de cycle.

- **V.2.1. DESCRIPTION DE LA ZONE D'ETUDE**

Les séries d'enquêtes ont été menées dans différentes localités (urbaines et rurales) de la région Nord-Est du pays (Figure 72). Celle-ci est délimitée, au Nord par la Méditerranée, au Sud par le désert du Sahara, à l'Est par la frontière Algéro-Tunisienne, et à l'Ouest par les limites des Wilayas de Bejaia, Sétif et M'Sila. Le choix de cette région a été fait en raison de plusieurs facteurs, notamment la richesse et la diversité de leur flore (méditerranéenne littoral, méditerranéenne tempéré, semi-aride) et l'importance de la pratique de la phytothérapie traditionnelle comme l'atteste de précédentes enquêtes dans ces régions [285, 286].

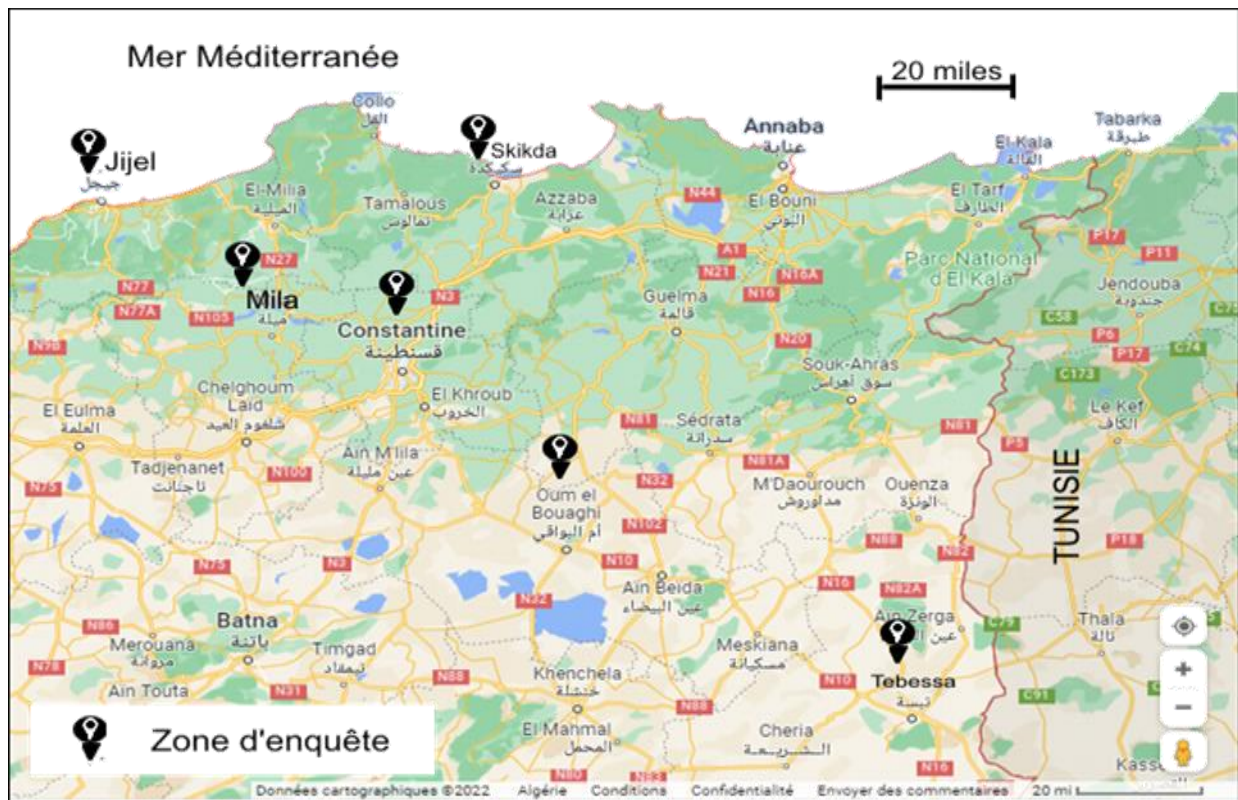


Figure 72 : Localisation des zones objets des enquêtes

Le choix des six (6) localités est dicté par leurs éloignements respectifs, la richesse floristique qui les caractérisent (Tableau 10), et par le facteur d'accessibilité (lieux de résidence et de stage pour les étudiants-enquêteurs).

Tableau 10 : Caractéristiques climatique et floristique des localités enquêtées

Localité	Climat	Caractéristiques floristique	Pluviométrie (Précipitation annuelle moyenne)
Constantine	Tempéré chaud	Riche et diversité des écosystèmes	469 mm
Jijel	Tempéré	Grande richesse floristique	982 mm
Skikda	Froid, relativement tempéré	Diversité et richesse floristique	680,3 mm
Oum-el-Bouaghi	Froid	Diversité floristique	356,8 mm
Tebessa	Semi-aride froid	Assez variée	371 mm



➤ V.2.2. DEROULEMENT DE L'ENQUETE

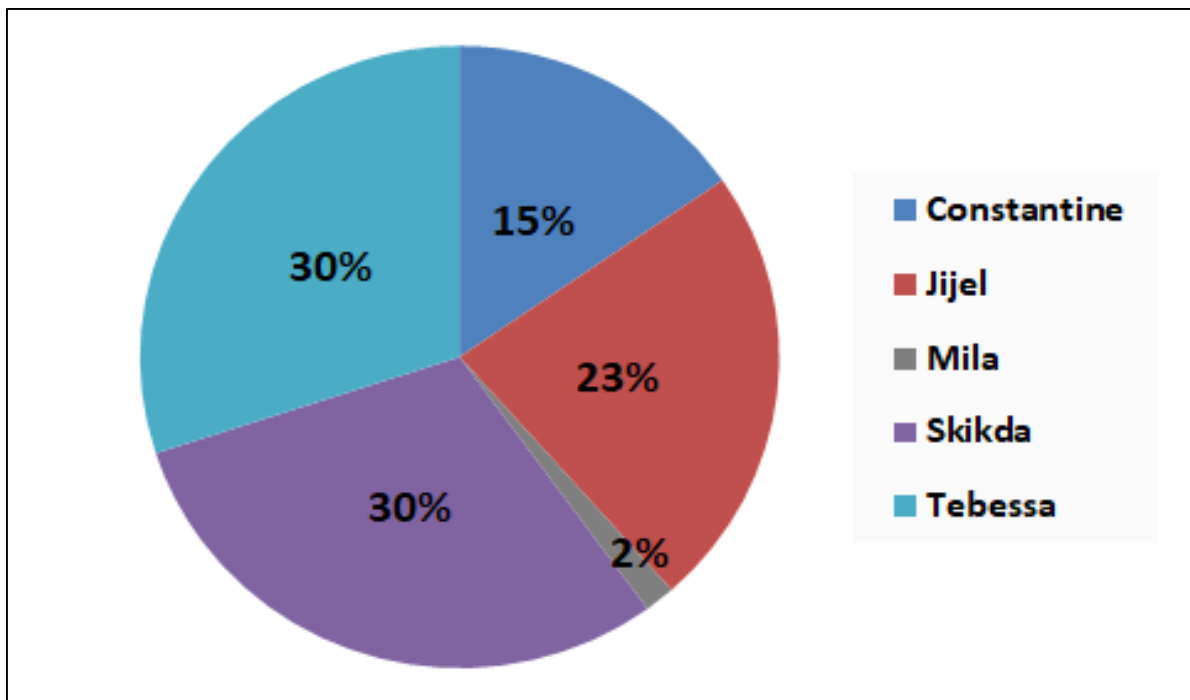
Le travail d'enquête a été mené en deux (2) phases, dans différentes localités, conformément à une démarche méthodologique précédemment décrite (Merzouki et al. 2000) [287].

■ V.2.2.1. PHASE I- ENQUETE DITE " D'INVENTAIRE "

Menée de **la fin Septembre 2017 jusqu'au début Avril 2018**. Dans les localités de Constantine, Mila, Jijel, Skikda et Tebessa. Elle s'est attelée à faire un inventaire le plus exhaustif possible des plantes médicinales utilisées spécifiquement dans le traitement d'infections respiratoires diverses par la population de ces localités. L'ultime objectif est de sélectionner une liste de 3 à 4 plantes prioritaires qui feront l'objet d'une étude botanique, physico-chimique et biologique.

Le travail de terrain mené sous forme d'entretien direct par le biais de deux questionnaires indépendants, l'un destiné aux **populations**, ci-après désigné par **consommateurs** (*Planche A*) ; l'autre principalement aux herboristes et tradiguériseurs, ci-après désignés par **connaisseurs** (*Planche B*). Les descriptifs respectifs des fiches questionnaires A et B sont visibles dans la partie des annexes.

- ❖ Le 1<sup>er</sup> groupe (**consommateurs**) est constitué de 130 personnes (45 hommes, et 85 femmes), d'âge et de niveau intellectuel différents, choisies aléatoirement parmi les populations de ces localités. Les enquêtés de ce groupe se répartissent par wilaya comme suit :
  - Wilaya de Constantine 15,4% des enquêtés.
  - Wilaya de Jijel 23,1% des enquêtés.
  - Wilaya de Tébessa 30,0% des enquêtés.
  - Wilaya de Skikda 30,0% des enquêtés.
  - Wilaya de Mila 1,5% des enquêtés.



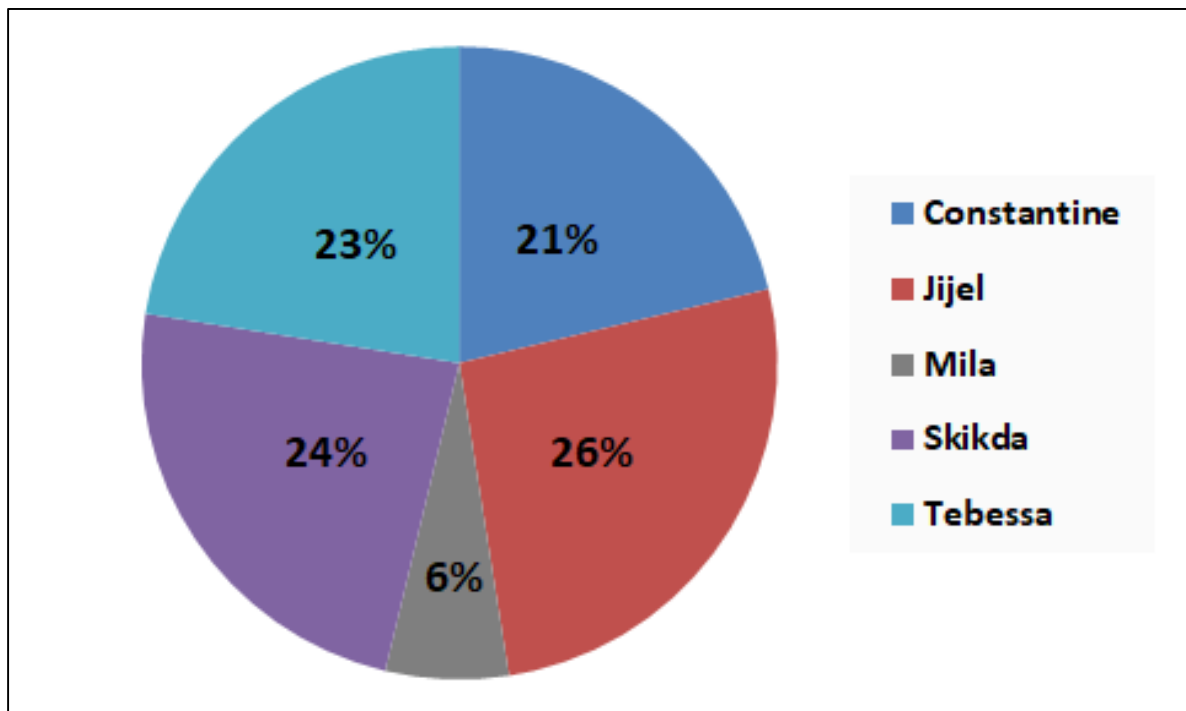
**Figure 73 : Répartition des enquêtés (consommateurs) par wilaya**

Le questionnaire utilisé pour ce 1<sup>er</sup> groupe (*Planche A, annexe 1*) est divisé en trois sections :

- Section 1 : renseigne sur le statut sociodémographique des personnes interrogées autant que consommateurs.
- Section 2 : concerne les différentes informations sur le traitement conventionnel ou traditionnel suivi lors d'une infection respiratoire donnée.
- Section 3 : s'intéresse au descriptif du traitement traditionnel suivi par les consommateurs pour le traitement d'infections respiratoires.

❖ Le 2<sup>ème</sup> groupe (**connaisseurs**), au nombre de 80 sujets (30 hommes, et 50 femmes), essentiellement des herboristes, des tradiguérisseurs et autres informateurs (médecine de grande mère,...) ; enquêtés dans leur boutique ou lors des souks hebdomadaires organisés périodiquement dans les différentes localités de notre travail. La répartition des enquêtés au niveau des wilayas était comme suit :

- Wilaya de Constantine 21,3% des enquêtés.
- Wilaya de Jijel 26,3% des enquêtés.
- Wilaya de Tébéssa 22,5% des enquêtés.
- Wilaya de Skikda 23,8% des enquêtés.
- Wilaya de Mila 6,1% des enquêtés.



**Figure 74 : Répartition des enquêtés (connaisseurs) par wilaya**

Le questionnaire destiné aux connaisseurs (*Planche B, annexe 2*) est organisé en deux sections :

- Section 1 : renseigne sur le statut sociodémographique des personnes interrogées autant que connaisseurs.
- Section 2 : s'intéresse sur le descriptif détaillé du traitement traditionnel conseillé, indiqué ou réputé par les connaisseurs pour le traitement d'affections respiratoires diverses.

#### ■ V.2.2.2. PHASE II– ENQUETE DITE " DE CONFIRMATION"

Menée de la fin Septembre 2018 jusqu'au début Mai 2019. Ce travail d'enquête a concerné toujours les populations des mêmes localités que la phase I, avec l'intégration d'une autre localité, d'Oum-El-Bouaghi. L'objectif étant de valider, confirmer, compléter et approfondir les informations sur les 3 ou 4 plantes sélectionnées les plus communément utilisées en infectiologie respiratoire. Pour chaque plante, des informations complémentaires sont recherchées, comme la nature des indications élargies à d'autres pathologies, les parties végétales utilisées, les modalités d'emploi et la perception par les usagers de l'efficacité du traitement traditionnel suivi. Un échantillon de 173 personnes (115 femmes, et 58 hommes), appartenant à différents âges, ont été enquêtés dans les différentes localités.

La répartition des personnes interrogées pour cette enquête par espèce et par wilaya est décrite dans le tableau 11.

Tableau 11 : Répartition des enquêtés par espèce et par wilaya

Wilaya \ Espèces	04	12	18	21	25	34	43
<b>Eucalyptus</b>	18	34	59	12	28	7	15
<b>Thym (Zaater/Ziitra)</b>	17	28	56	20	28	7	17
<b>Verveine (Louiza)</b>	/	43	23	40	46	/	21

04-Oum-El-Bouaghi ; 12-Tebessa ; 18-Jijel ; 21-Skikda ; 25-Constantine ; 34-Bordj-Bouairidj ; 43-Mila

Le questionnaire utilisé (*Planche C, annexe 3*) pour cette enquête auprès de la population des localités choisies est organisé en deux principales sections :

- Section 1 : renseigne sur le statut sociodémographique des personnes interrogées ;
- Section 2 : traite les différentes informations à propos de la connaissance, l'usage et l'efficacité des 3 ou 4 plantes les plus communément utilisées en infectiologie respiratoire.

#### ➤ V.2.3. TRAITEMENT DE L'INFORMATION COLLECTÉE

L'intérêt a été accordé à la variabilité et/ou la répétitivité de l'information d'une localité à l'autre. Selon Bellakhdar (1997), plus étendue sera l'aire de diffusion de l'information, plus grande sera la probabilité du bien-fondé de cet information et plus pertinente sera l'observation et la sélection de cette information. Pour avoir l'information la plus crédible possible, les données ont été vérifiées dans l'espace en confrontant les données de localités différentes et dans le temps en confrontant les propos des personnes questionnées d'une même localité. Une information est dite crédible si elle est rapportée au moins deux fois dans deux localités différentes et si possible par des informateurs différents [288].

Des séances de travail préalables ont été organisées pour briefier les enquêteurs sur les modalités pratiques de mise en œuvre des enquêtes et de la prise de note de l'information collectée.

La figure 75 résume et expose les détails des deux phases (phase I et II) d'enquêtes pratiquées.

Le recueil et l'analyse des données ont été réalisés à l'aide de l'application EXCEL version 2013 (Microsoft®) ; ce dernier a permis de saisir au fur et à mesure les questionnaires collectés, et de traiter les données automatiquement par une analyse descriptive.

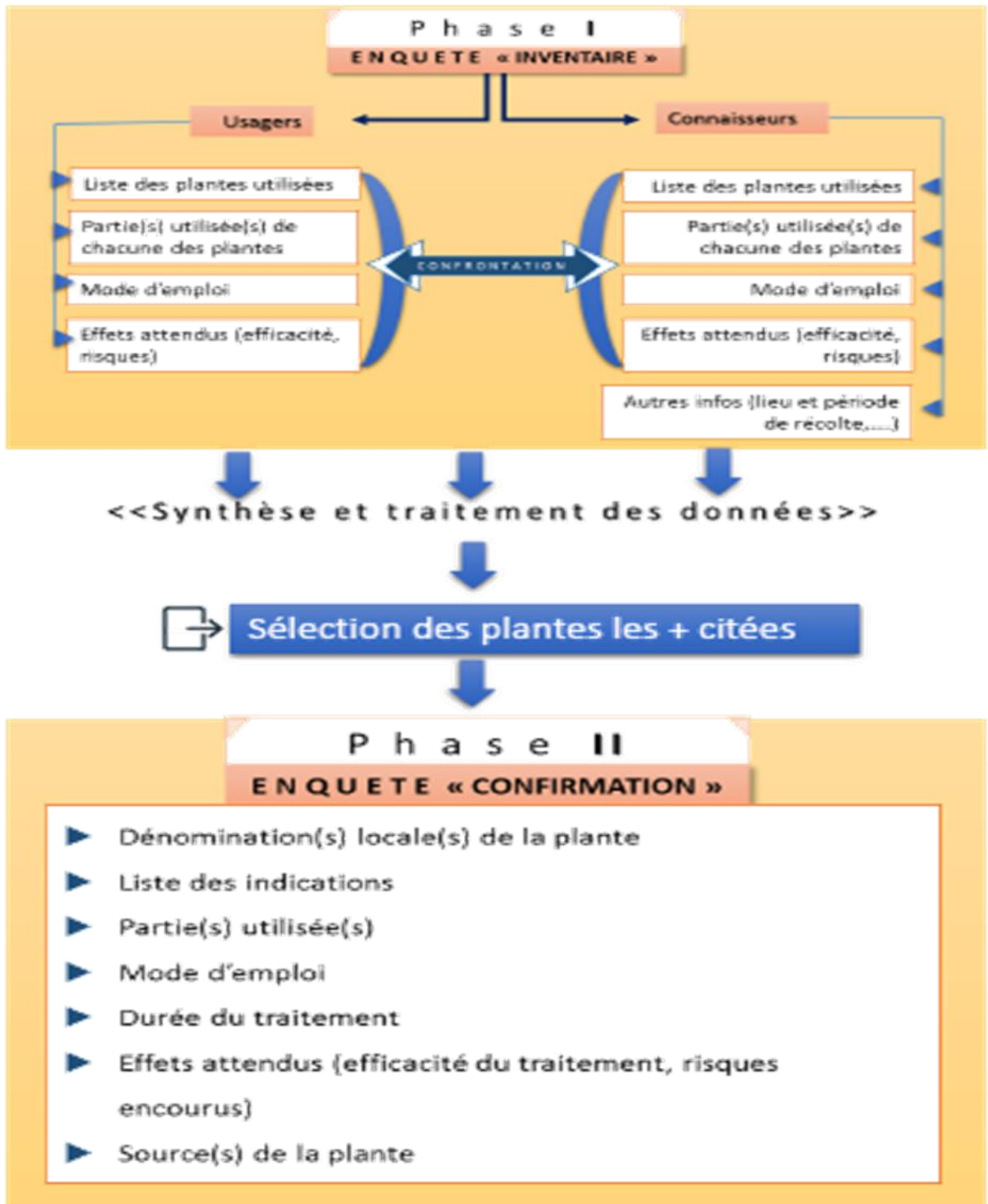


Figure 75 : Synoptique des enquêtes ethnopharmacologiques

## ➤ V.2.4. DECODAGE DE L'IDENTITE BOTANIQUE DES PLANTES

- La 1<sup>ère</sup> phase de l'enquête s'est attelée à dresser un inventaire le plus exhaustif possible des plantes citées, utilisées, et conseillées selon la population des consommateurs et des connaisseurs enquêtés, dans le traitement des maladies d'infections respiratoires diverses.

A la fin de la 1<sup>ère</sup> phase d'enquête, une transcription des noms usuels (arabe, berbère) vers les noms latins a été réalisée uniquement pour les plantes les plus citées, à savoir l'Eucalyptus (كليتوس), les thyms (زعترا او زعيترا) et la verveine odorante (لويضة), et selon une démarche éprouvée auparavant (Merzouki et al. 2000). Cette identification a été rendue possible grâce à la pleine collaboration de nos informateurs "sympathisants" (herboristes collaborateurs). Du matériel végétal a été obtenu de la collection propre des herboristes et/ou collecté sur terrain grâce à leurs orientations.

- Dans la 2<sup>ème</sup> phase de l'enquête, pour valider, vérifier et compléter les données et, dans certains cas, pour bien énoncer la corrélation des noms vernaculaires et scientifiques, une partie de la plante ou une plante entière a été montrée de nouveau, et dans certains cas à nos précédents interlocuteurs. On leur demandé s'ils la reconnaissaient et s'ils en connaissaient le nom vernaculaire, le(s) usages médicinal(s), la ou les parties utilisées, le mode de préparation et les modalités d'utilisation, etc., comme décrit (Merzouki et al. , 2000).

Les échantillons de plantes retenues pour la 2<sup>ème</sup> phase ont fait l'objet d'une reconnaissance botanique formelle par le Pr CHEFROUR Azzedine (Professeur en Botanique, Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Souk Ahras -Algérie-). Les vouchers spécimens correspondants ont été déposés au niveau de l'herbier du laboratoire de Pharmacognosie, département de pharmacie de Constantine. Tous les noms scientifiques ont été listés en utilisant une base de données standardisée ([www.theplantlist.org](http://www.theplantlist.org) et sa version actualisée [www.worldfloraonline.org](http://www.worldfloraonline.org)); certains synonymes importants cités dans la flore Algérienne ont été inclus (Quezel & Santa, 1962)).

- **V.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS**

- **V.3.1. RESULTATS DE L'ENQUETE DITE « D'INVENTAIRE »**

- ❖ **V.3.1.1. LE 1<sup>ER</sup> GROUPE (CONSOmmATEURS)**

- L'enquête menée dans différentes localités du Nord-Est algérien a permis de mettre en évidence l'importance de la phytothérapie traditionnelle dans la prise en charge des diverses maladies d'infectios respiratoires. La population enquêtée (130 sujets) est en majorité de sexe féminin (65%), de niveau universitaire (77,7%), et dont la tranche limitée entre 20 à 50 ans (Tableau 12).

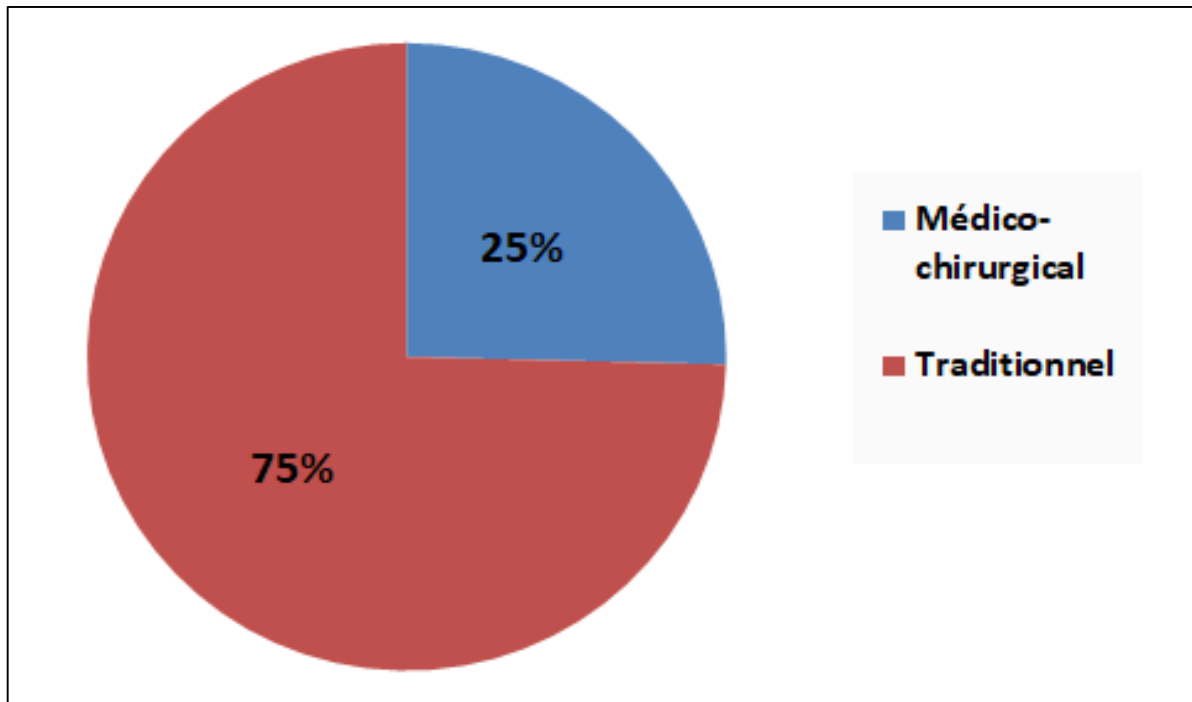
**Tableau 12 : Variabilités socioculturelles de la population enquêtée**

Paramètres		Nombre	Pourcentage
<i>Sexe</i>	<b>Masculin</b>	45	34,6%
	<b>Féminin</b>	85	65,4%
<i>Interval d'âge</i>	<b>[20-30]</b>	73	56%
	<b>[30-40]</b>	31	24%
	<b>[40-50]</b>	13	10%
	<b>[50-60]</b>	5	4%
	<b>[60-70]</b>	8	6%
<i>Niveau d'éducation</i>	<b>Analphabète</b>	9	6,9%
	<b>Primaire</b>	6	4,6%
	<b>Secondaire</b>	14	10,8%
	<b>Universitaire</b>	101	77,7%

- Plus de 74% des sujets enquêtés utilisent en première instance des plantes pour se soigner contre seulement 25% qui sont adeptes de la médecine conventionnelle. Ce fort pourcentage est en accord avec celui avancé par l'OMS de 80% en Afrique et dans les autres régions du monde en voie de développement (Tableau 13, Figure 76) [289].

**Tableau 13 : Nature de traitement préconisé / utilisé en infectiologie respiratoire**

Traitement préconisé	Nombre	Poucentage
Médico-chirurgical	33	25,4%
Traditionnel	97	74,6%



**Figure 76 : Nature de traitement préconisé / utilisé en infectiologie respiratoire**

- L'observation du tableau 14 ; nous renseigne sur les principales plantes médicinales utilisées pour le traitement des pathologies d'infections respiratoire. Les résultats ont montré par ordre d'importance l'usage des remèdes traditionnels suivants : La verveine (27,3%), le thym (26,7%), l'eucalyptus (11,3%), le gingembre (10,7%), la menthe (8%), et le citron (6,7%). Le reste des enquêtés a cité d'autres remèdes avec des taux assez faibles.



Tableau 14 : Plantes utilisées pour le traitement d'infections respiratoires

Plantes	Nombre	Pourcentage
Verveine	41	27,3%
Thym	40	26,7%
Eucalyptus	17	11,3%
Gingembre	16	10,7%
Menthe	12	8,0%
Citron	10	6,7%
Myrte	3	2,0%
Guimauve	2	1,3%
Inule visqueuse	2	1,3%
Curcuma	2	1,3%
Lentisque	2	1,3%
Romarin	2	1,3%
Ail	1	0,7%

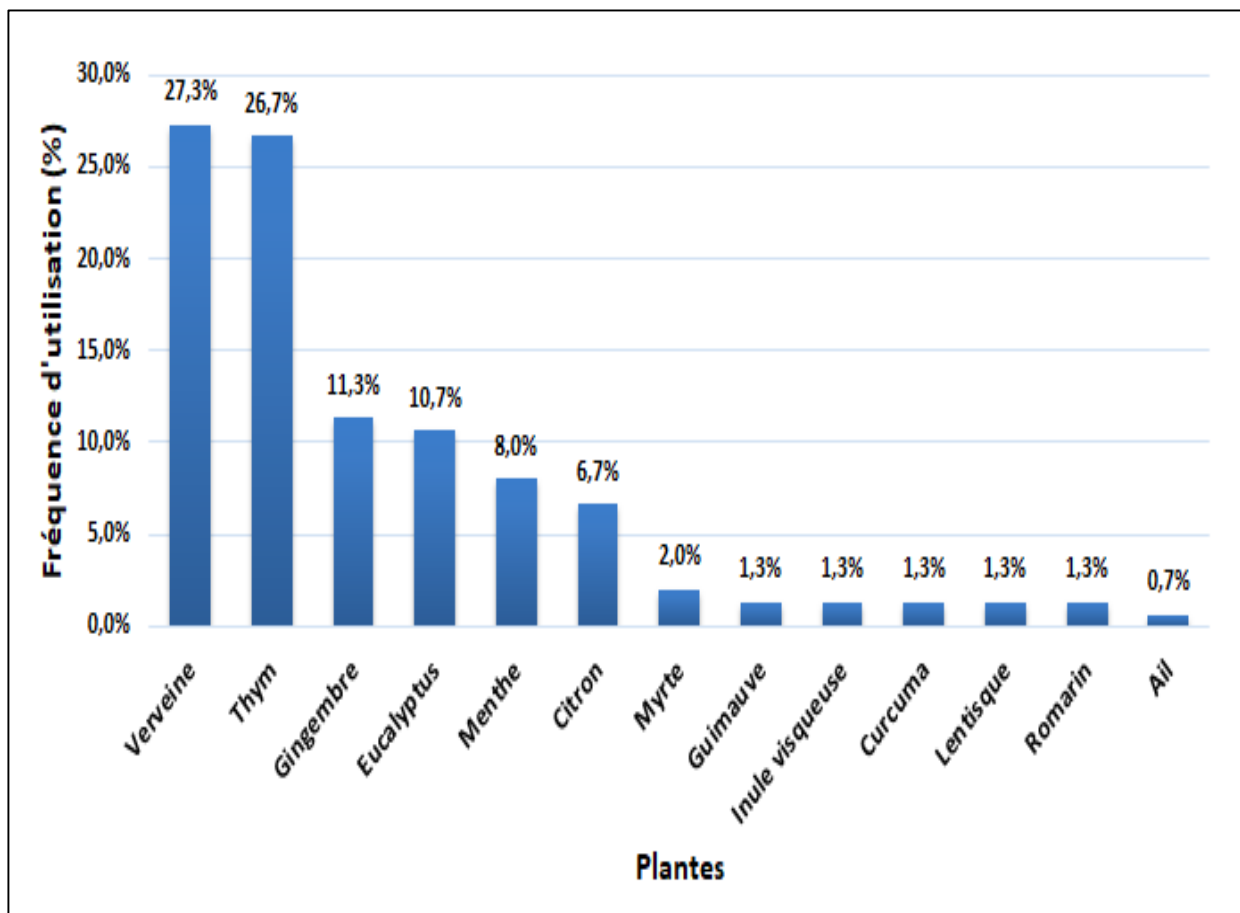


Figure 77 : Plantes utilisées pour le traitement d'infections respiratoires

Ces réponses très variées témoignent du niveau élevé d'expériences et des connaissances de la population cible vis-à-vis des usages curatifs de plantes médicinales et aromatiques en infectiologie respiratoire.

L'analyse des résultats obtenus montre que le thym est potentiellement utilisé contre les maladies respiratoires dans la région du nord-est Algérien. Cette utilisation majeure du thym est comparable à son usage en Turquie et en Espagne signalé dans les deux études menées par Ugur Cakilcioglu et ses collaborateurs en 2011 ; Carrió et ses collaborateurs en 2012 [290, 291].

- Les consommateurs ayant essayés les plantes médicinales aromatiques (PMAs) dans le traitement de différentes maladies respiratoires ont déclaré leur satisfaction dans la majorité des cas, alors qu'une minorité d'entre eux ont constaté que le traitement traditionnel est peu efficace. Ces résultats cohérents avec ceux retrouvés par Mikou et ses collaborateurs en 2015 [292].

#### ❖ V.3.1.2. LE 2<sup>ème</sup> GROUPE (CONNAISSEURS)

- Pour le groupe des connaisseurs enquêtés (80 sujets) est en majorité de sexe féminin (62%), de niveau universitaire (78%), et dont la moyenne limitée entre 20 à 50 ans. À noter également que la plupart des connaisseurs pour cette enquête sont des herboristes (50%) (Tableau 15).

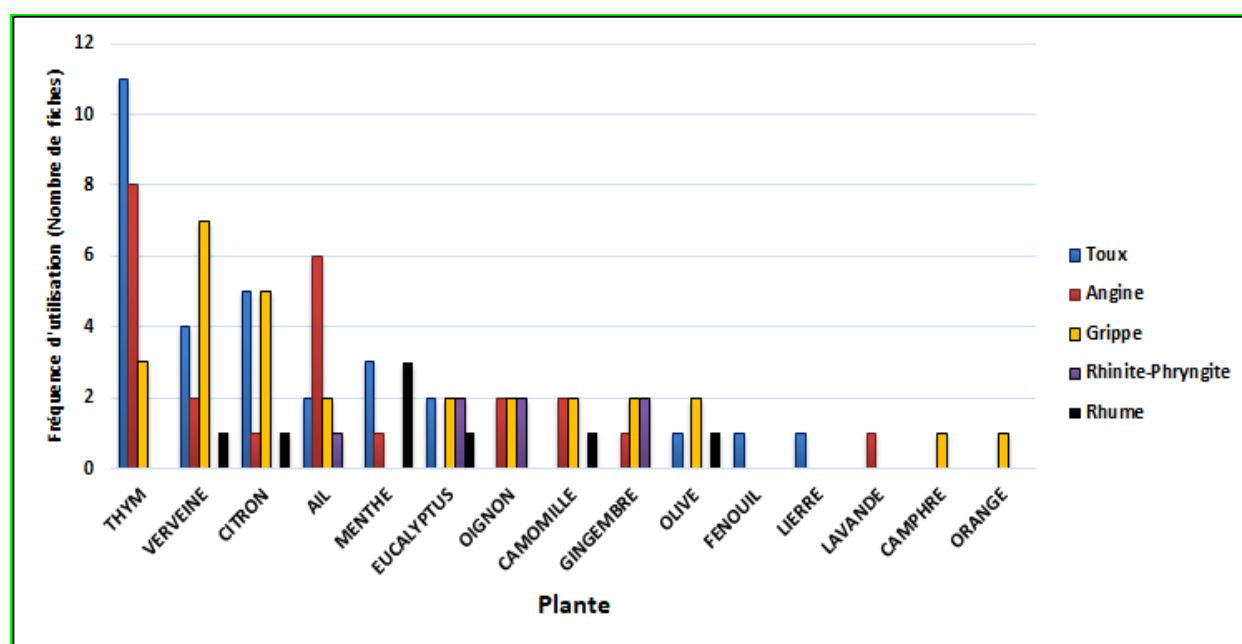
**Tableau 15 : Variabilités socioculturelles des connaisseurs enquêtés**

Paramètres		Nombre	Pourcentage
<i>Type informateur</i>	Herboriste	40	50%
	Guerisseurs trad.	15	18,8%
	Autre source	25	31,2%
<i>Sexe</i>	Masculin	30	37,5%
	Féminin	50	62,5%
<i>Interval d'âge</i>	[20-30]	39	48%
	]30-40]	25	32%
	]40-50]	4	5%
	]50-60]	7	9%
	]60-70]	5	6%
<i>Niveau d'éducation</i>	Analphabète	5	6,3%
	Primaire	2	2,4%
	Secondaire	11	13,8%
	Universitaire	62	77,5%

- Concernant, les pathologies infectieuses diverses de l'appareil respiratoire étudiées dans cette enquête ; nous notons une plus forte distribution des réponses en faveur du traitement traditionnel avec une nette prédominance de quelques remèdes tels que : Le thym, la verveine, le citron, l'ail, la menthe, l'eucalyptus, l'oignon, la camomille et le gingembre.
- A noter également que dans l'ensemble, ces données concordent avec celles observées avec le groupe des consommateurs (Figure 78).

**Tableau 16 : Plantes les plus recommandées par type d'affection respiratoire**

Plantes	Affections respiratoires				
	Toux	Angine	Grippe	Rhinite-Pharyngite	Rhume
Thym	11	8	3	0	0
Verveine	4	2	7	0	1
Citron	5	1	5	0	1
Ail	2	6	2	1	0
Menthe	3	1	0	0	3
Eucalyptus	2	0	2	2	1
Oignon	0	2	2	2	0
Camomille	0	2	2	0	1
Gingembre	0	1	2	2	0
Olive	1	0	2	0	1
Fenouil	1	0	0	0	0
Lierre	1	0	0	0	0
Lavande	0	1	0	0	0
Camphre	0	0	1	0	0
Orange	0	0	1	0	0



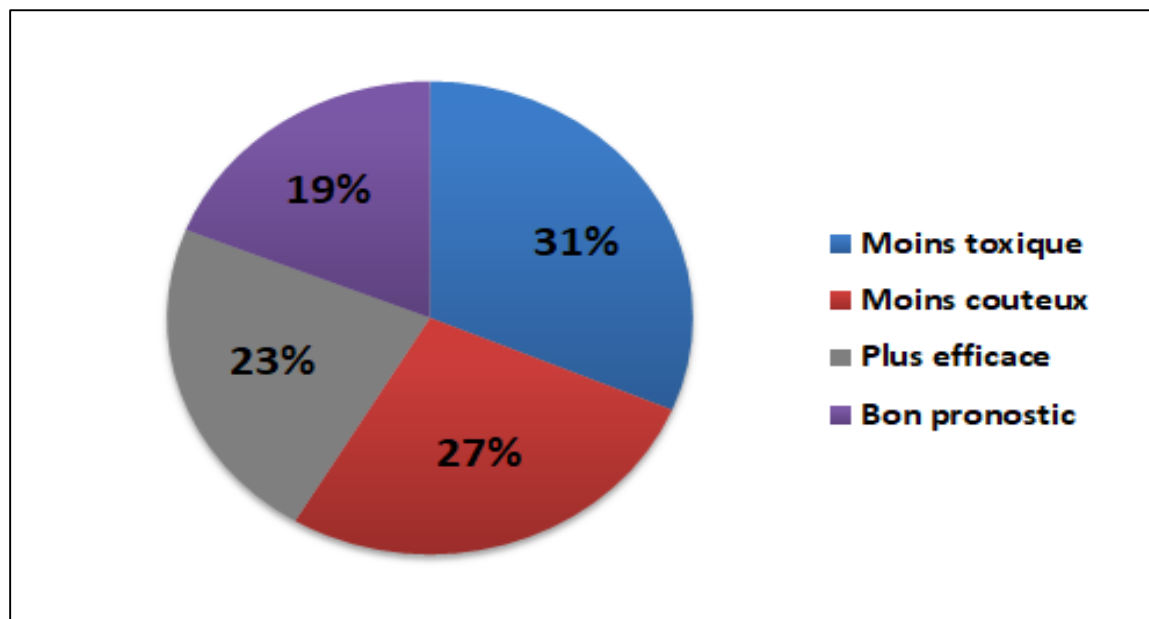
**Figure 78 : Plantes les plus recommandées par type d'affection respiratoire**

Ces réponses très variées témoignent du niveau élevé des connaissances de la population cible vis-à-vis des usages traditionnels dans le traitement d'infections respiratoires diverses.

- L'usage des plantes dans leur exercice est justifié par différents motifs. Ces enquêtés pensent que le recours à la phytothérapie comme moyen de traitement est moins invasives (31,2%) et moins couteux (27,5%) que le traitement conventionnel. L'efficacité des traitements à base de plantes médicinales dans les maladies respiratoires est également soulignée (22,5%) (Tableau 17).

**Tableau 17 : Motifs de (conseil / livraison) de traitement traditionnel à base de plantes pour le soin d'affections respiratoires**

Motif	Nombre	Pourcentage
Moins toxique	25	31,2%
Moins couteux	22	27,5%
Plus efficace	18	22,5%
Bon pronostic	15	18,8%



**Figure 79 : Motifs de (conseil/livraison) de traitement traditionnel à base de plantes pour le soin d'affections respiratoires**

- La collecte, la synthèse et la confrontation des données recueillies ont permis de dresser une liste de noms de plantes potentielles, conseillées et utilisées en infectiologie respiratoire. Le tableau 18 décrit le nom local des plantes, leur affiliation botanique, la (ou les) partie(s) utilisée(s), la forme d'utilisation et l'(ou les) indication(s) mentionnée(s) en fonction de l'affection respiratoire.

Tableau 18 : Plantes utilisées pour le traitement d'affections respiratoires classées selon la fréquence de citation

N°	Nom arabe	Transcription en français	Nbre de citation			Famille botanique	Partie(s) utilisée(es)	Forme(s) d'utilisation	Indication (s)* (nbre de citation)
			Usag. T=150	Connais. T=97	Total T=247				
1	زعتار زعيترا	[Zaatar/ziiitra]	40 (26,7%)	22 (22,7%)	62 (25%)	Lamiaceae	Part aér.	Infusion 76%	A(8) ; G(3) ; RP(0) ; R(0) ; T(11)
2	لويزة	[Louiza]	41 (27,3%)	14 (14,4%)	55 (22)	Verbenaceae	Feuille	Infusion 79%	A(2) ; G(7) ; RP(0) ; R(1) ; T(4)
3	كليتوس	[Kalitouss]	17 (11,3%)	7 (7,2%)	25 (10%)	Myrtaceae	feuille	Infusion 63%	A(0) ; G(2) ; RP(2) ; R(1) ; T(2)
4	قارص	[Karass]	10 (6,7%)	12 (12,4)	22	Rutaceae	Fruit	Jus / Zest frais	A(1) ; G(5) ; RP(0) ; R(1) ; T(5)
5	زنجبيل	[Zenjabil]	16 (10,7%)	5 (5,1%)	21	Zingiberaceae	Rhizome	Coupé / Râpé	A(1) ; G(2) ; RP(2) ; R(0) ; T(0)
6	نعناع	[Nanaa]	12 (8,0%)	7 (12,4%)	19	Lamiaceae	Feuille	Infusion	A(1) ; G(0) ; RP(0) ; R(3) ; T(3)
7	ثوم	[Thoum]	1 (0,7%)	11 (11,3%)	12	Amaryllidaceae	Bulbe	Coupé / Broyé	A(6) ; G(2) ; RP(1) ; R(0) ; T(2)
8	بصل	[Bsall]	nc	6 (6,2%)	6	Amaryllidaceae	Bulbe	Cru	A(2) ; G(2) ; RP(2) ; R(0) ; T(0)
9	بابونج	[Babounj]	nc	5 (5,1%)	5	Asteraceae	Capitules	Infusion	A(2) ; G(2) ; RP(0) ; R(1) ; T(0)
10	زيتون	[Zitoun]	nc	4 (4,1%)	4	Oleaceae	Huile fixe	Huile fixe	A(0) ; G(2) ; RP(0) ; R(1) ; T(1)
11	ريحان	[Rihan]	3 (2,0%)	nc	3	Myrtaceae	Feuille	Infusion /Décoction /Extrait fuide	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
12	الخطمي	[Khotami]	2 (1,3%)	nc	2	Malvaceae	Fleur	Infusion	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
13	مغرمان	[Magraman]	2 (1,3%)	nc	2	Asteraceae	Feuille	Extrait aqueux	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
14	كركم	[Kerkoum]	2 (1,3%)	nc	2	Zingiberaceae	Rhizome	Infusion /Râpé /Cuit /Cru	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
15	ضرو	[Drew]	2 (1,3%)	nc	2	Anacardiaceae	Huile fixe	Huile fixe	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
16	إكليل الجبل	[Iklill el-djabel]	2 (1,3%)	nc	2	Lamiaceae	Ram. feui	Infusion /Extrait liquide /Teinture	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
17	لاوي	[Lawey]	nc	1 (1,0%)	1	Hederaceae	Feuille	Infusion	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(1)
18	تشينة	[Tchina]	nc	1 (1,0%)	1	Rutaceae	Fruit	Quarties /Pressée en jus	A(0) ; G(1) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
19	خزامة	[Khzama]	nc	1 (1,0%)	1	Lamiaceae	Feuille	Infusion	A(1) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(0)
20	بسباس	[Besbass]	nc	1 (1,0%)	1	Apiaceae	fruit	Cuit /Cru /Infusion	A(0) ; G(0) ; RP(0) ; R(0) ; T(1)

A : Angine ; G : Grippe ; RP : Rhinite/Pharyngite ; R : Rhume ; T : Toux ; nc : non citée

- Le travail de terrain, dans sa 1<sup>ère</sup> phase, a permis de recueillir des noms vernaculaires de plantes, représentant dix familles botaniques différentes. Selon l'origine des citations (usagers, connaisseurs), trois catégories de plantes peuvent être distinguées (Tableau 19).

**Tableau 19 : Catégories de plantes selon l'origine des citations**

	Citation		Nom cité	Niveau de certitude
	Usagers	Connaisseurs		
<b>Catégorie 1</b>	137 (91,4%)	78 (82,1%)	[Zaatar/ziitra] ; [Louiza] ; [Kalitouss] ; [Karass] ; [Zenjabil] [Nanaa] ; [Thoum]	<b>A</b>
<b>Catégorie 2</b>	14 (8,6%)	/	[Rihan] ; [Khotami] ; [Magraman] ; [Kerkoum] ; [Drew] ; [Iklill el-djabel]	<b>B</b>
<b>Catégorie 3</b>	/	17 (17,9%)	[Bsall] ; [Babounj] ; [Zitoun] ; [Lawey] ; [Tchina] ; [Khzama] ; [Besbass]	<b>B</b>

**A**-Crédible (cité par 2 sources) ; **B**-Moins crédible (cité par 1 seule source)

La catégorie 1 (plantes les plus crédibles) regroupe sept noms vernaculaires de plantes, à savoir : [Zaatar/ziitra], [Louiza], [Kalitouss], [Karass], [Zenjabil], [Nanaa] et [Thoum]. Ces appellations de plantes ont été mentionnées à la fois par les usages et les connaisseurs (plus de 87% des enquêtés). Elle constitue par conséquent « un réservoir » de plantes potentiellement intéressantes à étudier en priorité comparées aux espèces figurant dans les catégories 2 et 3 (plantes citées uniquement par les 8,6% des usagers pour la catégorie 2 et 17,9% des connaisseurs pour la catégorie 3). Les plantes des catégories 2 et 3 sont relativement moins crédibles que la catégorie 1 quant à leur intérêt dans le traitement des affections respiratoires.

Les trois premières plantes de cette série, à savoir [Zaatar/ziitra], [Louiza] et [Kalitouss] ont obtenu les scores globaux de citation (usagers, connaisseurs) les plus élevés, variant de 4,8% à 25%. Selon la démarche choisie, ces dernières feront l'objet de l'enquête de confirmation, en vue d'approfondir les données recueillies quant à leurs indications et modalités d'utilisation.

- A ce niveau de l'étude, avant d'entamer l'étape de l'enquête de confirmation, une transcription des noms vernaculaires vers les noms scientifiques a été faite (Tableau 20).

Tableau 20 : Décodification des noms vernaculaires

Nom vernaculaire	Nom scientifique
[Ziitra]	<i>Thymbra capitata</i> L. Cav. / Syn. : <i>Thymus capitatus</i> L.
[Zaatar]	<i>Origanum vulgare</i> L.
[Louiza]	<i>Aloysia citriodora</i> Palau. / Syn. : <i>Aloysia triphylla</i>
[Kalitouss]	<i>Eucalyptus globulus</i> L.

Il est opportun de préciser que l'identification d'*Aloysia citriodora* et d'*Eucalyptus globulus* a été faite à partir des collections propres des herboristes, identifiées formellement par les services de la conservation des forêts (pour *E. globulus*) et par la suite par un botaniste reconnu. Dans le cas de la plante dénommée [Zaatar/Ziitra], il faut savoir que les populations utilisent souvent des noms locaux ou vernaculaires à la place de la nomenclature latine des botanistes. Souvent, ils tiennent compte les caractères dominants (forme, couleur, odeur, etc.). C'est ainsi qu'il utilise le nom vernaculaire générique de "Zaater" pour référer aux thymes odorants, les origans et toute Labiée à thymol. Le terme "Ziitra" réfère plus à des thymes à petites feuilles. Pour lever toute confusion concernant l'identification de cette plante, un retour sur terrain dans différentes localités accompagné par des herboristes des régions d'étude "sympathisants" nous a permis de procéder à des prélèvements d'échantillons sur terrain des plantes qu'ils utilisent et d'en faire la détermination systématique par un botaniste reconnu (Pr CHEFROUR Azzedine -Professeur en Botanique de l'Université de Souk Ahras -Algérie-). A l'issue de cette investigation, deux espèces de thym ont été formellement identifiées, à savoir le *Thymbra capitata* L. Cav et *Origanum vulgare* L.

Des échantillons de ces deux taxons, ont été pris en considération lors de la 2ème phase de l'enquête, pour compléter ou vérifier les données et, dans certains cas, pour bien énoncer la corrélation des noms vernaculaires aux noms scientifiques [293].

### ■ V.3.2. RESULTATS DE L'ENQUETE DITE « DE CONFIRMATION »

- L'enquête ethnopharmacologique de confirmation a été menée sur un lot de 173 personnes dont la majorité du sexe féminin (66% femmes) ; dominées par la tranche d'âge allant du 17 ans à 31 ans avec un pourcentage de 81%. On signale également que presque la totalité des enquêtés sont des universitaires avec un taux de 95% (Tableau 21).

**Tableau 21 : Variabilités socioculturelles des enquêtées (enquête phase II)**

Paramètre	Nombre	Pourcentage	
<i>Sexe</i>	<b>Masculin</b>	58	33,5%
	<b>Féminin</b>	115	66,5%
<i>Interval d'âge</i>	<b>[17 - 31,5]</b>	140	81%
	<b>]31,5 - 46]</b>	21	12%
	<b>]46 - 60,5]</b>	11	6%
	<b>]60,5 - 75]</b>	1	1%
<i>Niveau d'éducation</i>	<b>Analphabète</b>	1	0,6%
	<b>Primaire</b>	3	1,7%
	<b>Secondaire</b>	4	2,3%
	<b>Universitaire</b>	165	95,4%

Le travail sur terrain auprès des populations des sept localités concernées par l'enquête de confirmation, a permis de recueillir des informations complémentaires sur les quatre plantes retenues, comme par exemple, la nature des indications élargies à d'autres pathologies, mise à part celle respiratoires.



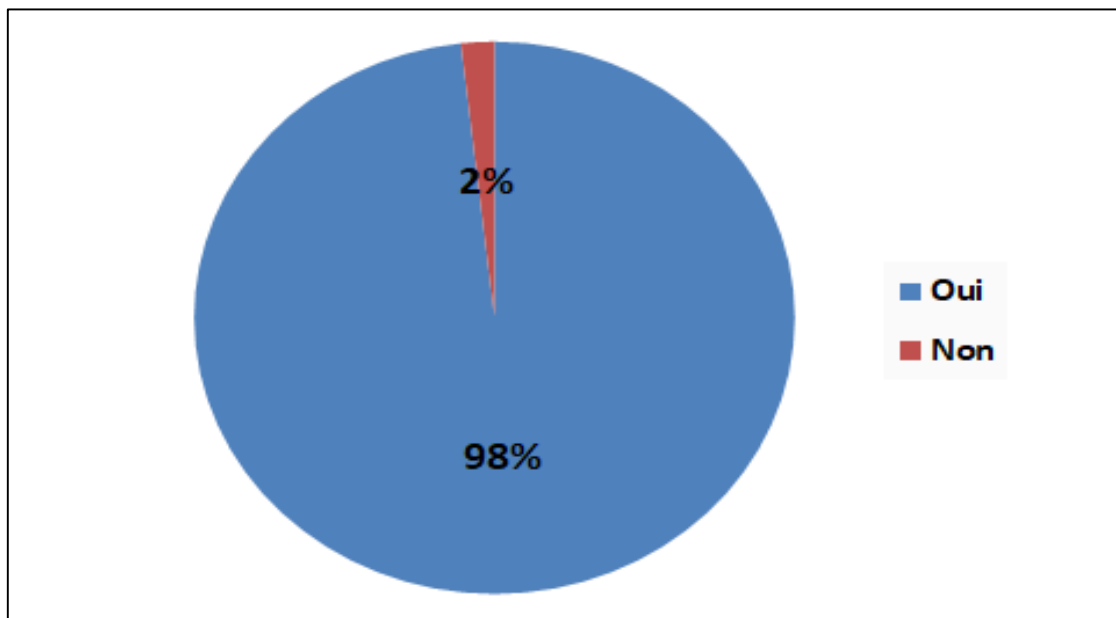
❖ **INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES SUR LES PLANTES MEDICINALES AROMATIQUES ETUDIEES « VERVEINE »**

Il est à signaler que seulement 56 personnes sur les 173 interrogés ont répondu conformément apropos la verveine.

- ✓ **Connaissance de la plante (Verveine)**
  - Les informations recueillies sur la connaissance de la verveine par les enquêtés sont représentées dans le tableau 22.

**Tableau 22 : Connaissance de la plante (Verveine)**

Connaissance de la plante	Nombre	Pourcentage
Oui	55	98,2%
Non	1	1,8%



**Figure 80 : Connaissance de la plante (Verveine)**

- ✓ **Indications principales de la plante (Verveine)**
  - Les indications principales de la verveine par les personnes interrogées sont resumées dans le tableau 23.

Tableau 23 : Indications principales de la plante (Verveine)

Systèmes	Indications	Nombre de citation
Système respiratoire	Antigrippal	34
	Anti-rhume	15
	Antitussif	2
Autres systèmes	Antidiarrhéique	1
	Antispasmodique	1
	Coliques	8
	Indigestion	1
	Maux d'estomac	1
	Troubles digestifs	2
	Antalgique	3
	Antiasthénique	1
	Anti-inflammatoire	2
	Antimigraineux	1
	Antipyrétique	4
	Antivertigineux	1
	Anxiété	2
	Calmante	2
	Dysménorrhées	4
	Relaxante	2
	Stress	1
Troubles du sommeil	4	

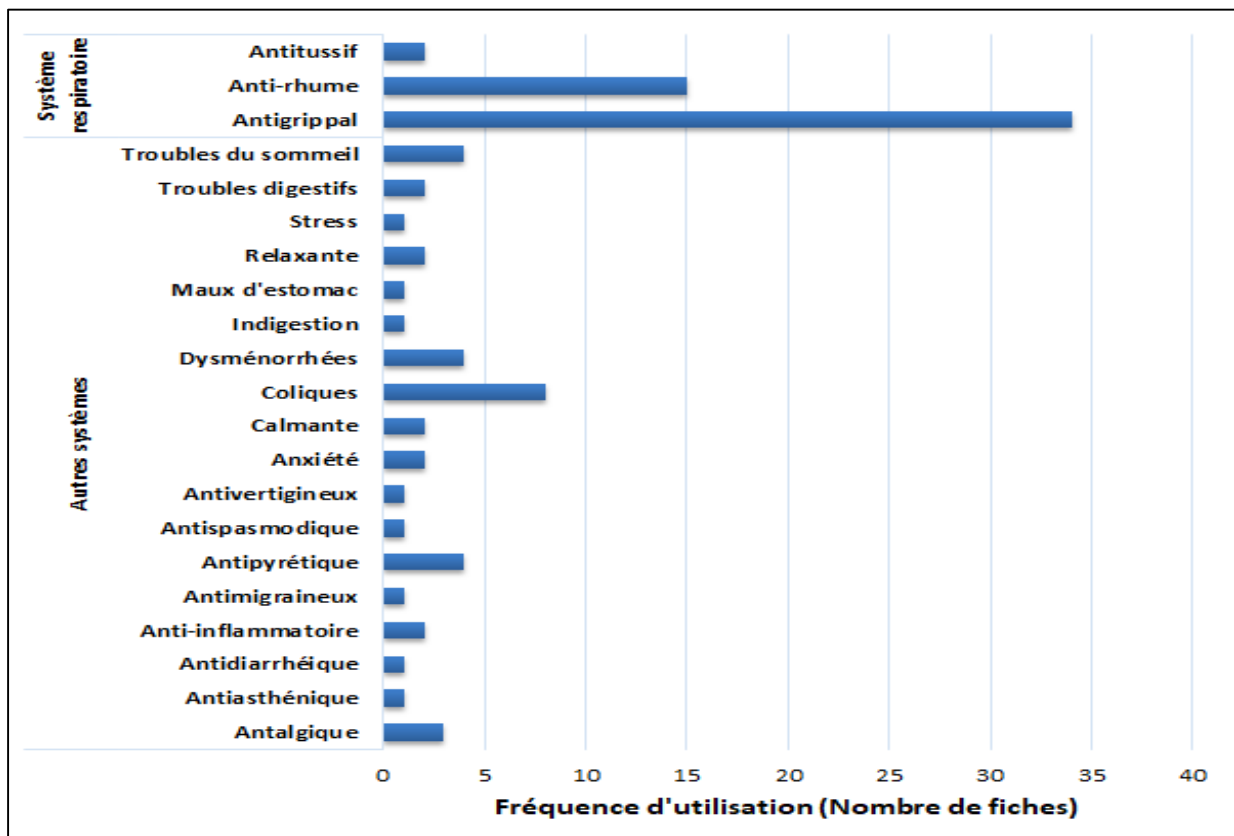


Figure 81 : Indications principales de la plante (Verveine)

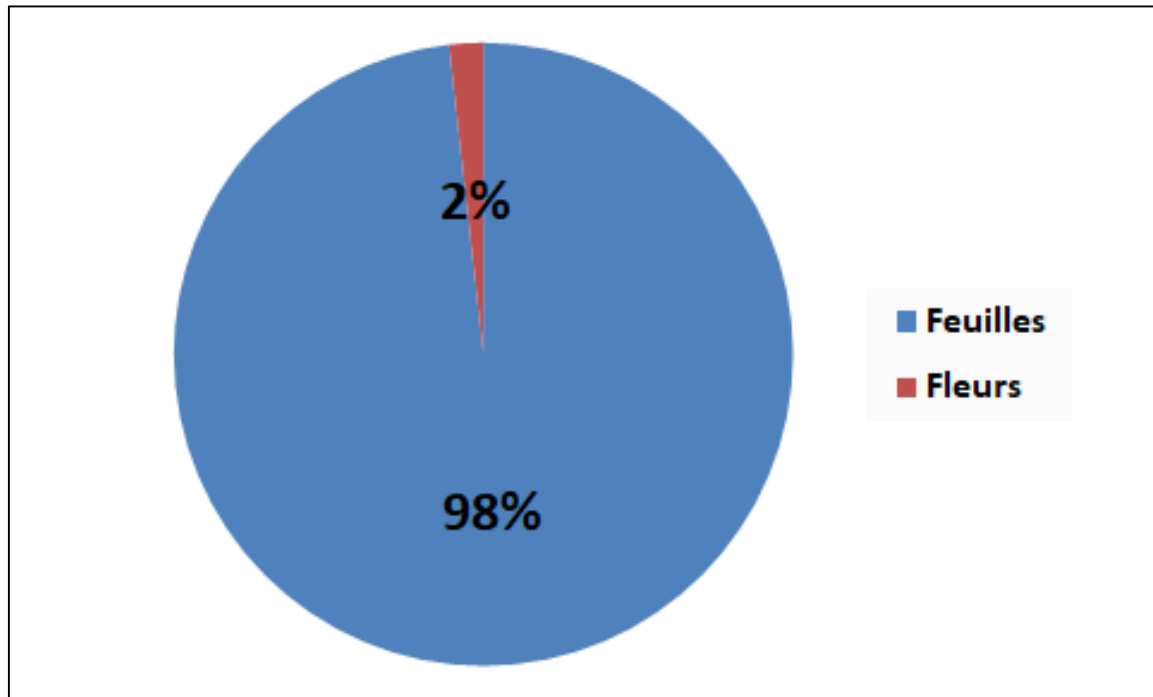
Ce graphe montre que la verveine est indiquée principalement dans le traitement des maladies de l'appareil respiratoire comme la grippe et le rhume. Ces résultats concordent avec ceux obtenue par El Hilah *et al.* en 2015 [294], et Briguiche *et al.* en 2019 [295] ; ainsi qu'une indication mineure dans le traitement des coliques, comparable au travail effectué par Sánchez1 *et al.* en 2020 [296].

✓ **Partie utilisée de la plante (Verveine)**

- La partie utilisée de la verveine par les personnes interrogées est resumée dans le tableau 24.

**Tableau 24 : Partie utilisée de la plante (Verveine)**

Partie de la plante	Nombre	Pourcentage
Feuilles	54	98,2%
Fleurs	1	1,8%



**Figure 82 : Partie utilisée de la plante (Verveine)**

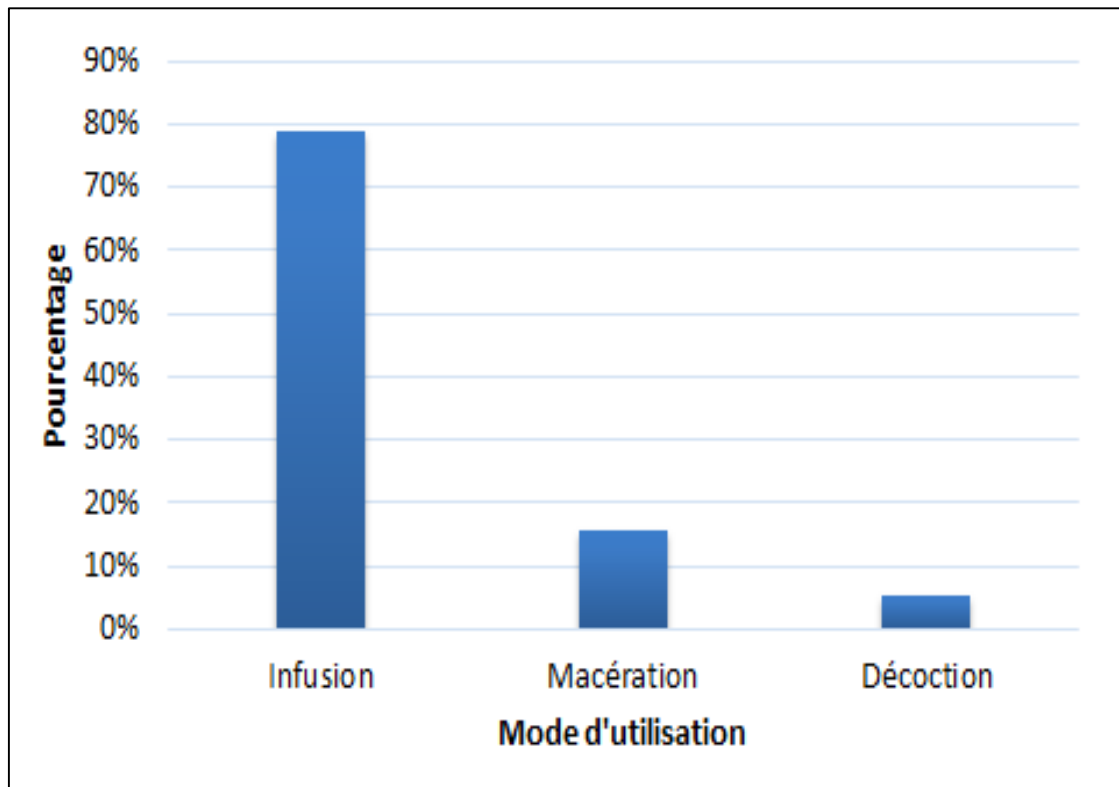
Ces résultats montrent que les feuilles représentent la partie la plus utilisée de cette plante ; à signaler que cette partie de la plante est la plus citée dans la majorité des études antérieures, parmi lesquelles nous citons celle menée par Sánchez1 *et al.* à Madrid en 2020 [296].

✓ **Modes d'utilisations de la plante (Verveine)**

- Les modes d'utilisations de la verveine par les personnes interrogées sont resumés dans le tableau 25.

**Tableau 25 : Modes d'utilisations de la plante (Verveine)**

Mode	Nombre	Pourcentage
Infusion	44	80%
Macération	8	14,5%
Décoction	3	5,5%

**Figure 83 : Modes d'utilisations de la plante (Verveine)**

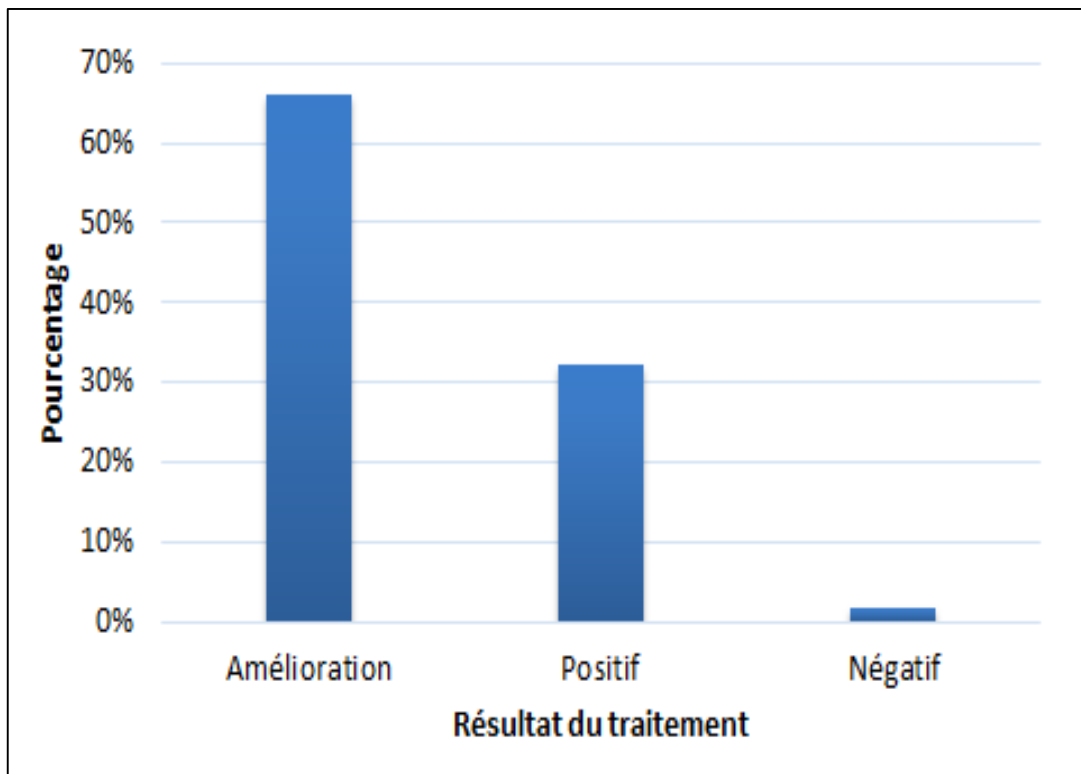
L'infusion est la principale méthode de préparation de la verveine ; et ceci concorde avec les résultats obtenus par Briguiche et *al.* en 2019 [295]. Cette utilisation majeure peut être expliquée par la facilité et la simplicité de préparation.

✓ **Résultats du traitement par cette plante (Verveine)**

- Les résultats du traitement par la verveine sont resumés dans le tableau 26.

**Tableau 26 : Résultats du traitement par cette plante (Verveine)**

Résultat du traitement	Nombre	Pourcentage
Amélioration	36	65,4%
Positif	18	32,8%
Négatif	1	1,8%



**Figure 84 : Résultats du traitement par cette plante (Verveine)**

La plupart des personnes interrogées ont signalé des améliorations après l'utilisation de la verveine, tout comme l'étude menée par Mikou et *al.* en 2015 [292].

❖ **INFORMATIONS COMPLEMENTAIRE SUR LES PLANTES MEDICINALES ETUDIEES « THYM »**

✓ **Connaissance de la plante (Thym)**

- Tous les enquêtés ont confirmés l'identité du thym.

✓ **Indications principales de la plante (Thym)**

- Les indications principales du thym par les personnes interrogées sont resumées dans le tableau 27.

Tableau 27 : Indications principales de la plante (Thym)

	<b>Indications</b>	<b>Nombre de citations</b>
<b>Système respiratoire</b>	Affections pulmonaires	2
	Affections respiratoires	2
	Angine	4
	Antigrippal	12
	Anti-rhume	8
	Antitussif	6
	Asthme	1
	Bronchite	7
	Bronchite allergique	1
	Expectorant	1
	Infections pulmonaires	2
	Infections respiratoires	2
	Mal de gorge	2
	Pharyngite	1
<b>Autres systèmes</b>	Affections digestives	8
	Amélioration du transit intestinal	1
	Antidiarrhéique	8
	Antiémétique	1
	Antiseptique intestinal	1
	Antispasmodique	2
	Ballonnements	4
	Carminative	1
	Coliques	20
	Douleurs gastriques	1
	Indigestion	1
	Laxatif	1
	Ulcère de l'estomac	2
	Antalgique	1
	Anti-age	1
	Antiasthénique	5
	Antibactérien	1
	Antifongique	1
	Antioxydant	1
	Antipyrétique	1
	Antiseptique	2
	Aptes	1
	Décontracturant musculaire	1
	Désinfectant des plaies	1
	Douleurs articulaires	1
	Douleurs menstruelles	2
	Dysménorrhées	2
	Fracture	1
	Inflammation	2
	Intoxication	1
	Intoxication alimentaire	1
	Soins buccaux	1
	Soulage les piqûres	1
Stress	1	
Vermifuge	3	

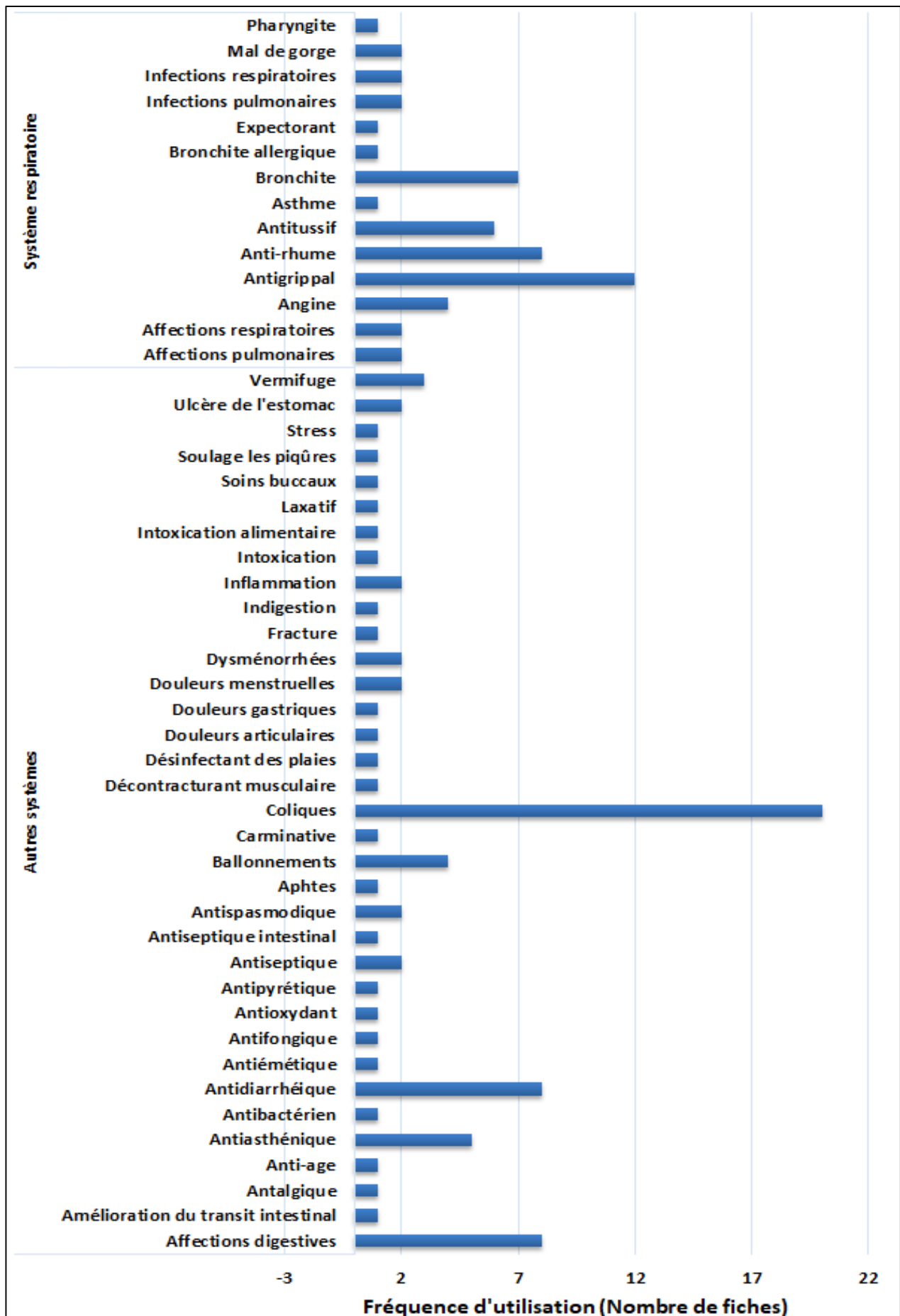


Figure 85 : Indications principales de la plante (Thym)

Le thym a plusieurs indications, tandis que l'effet antigrippal est le plus prononcé par les enquêtés ; ces résultats sont similaires à ceux décrits dans l'enquête menée par Briguiche et *al.* en 2019 [295] ; ainsi que les travaux de Orch et *al.* en 2020 [297].

✓ **Partie utilisée de la plante (Thym)**

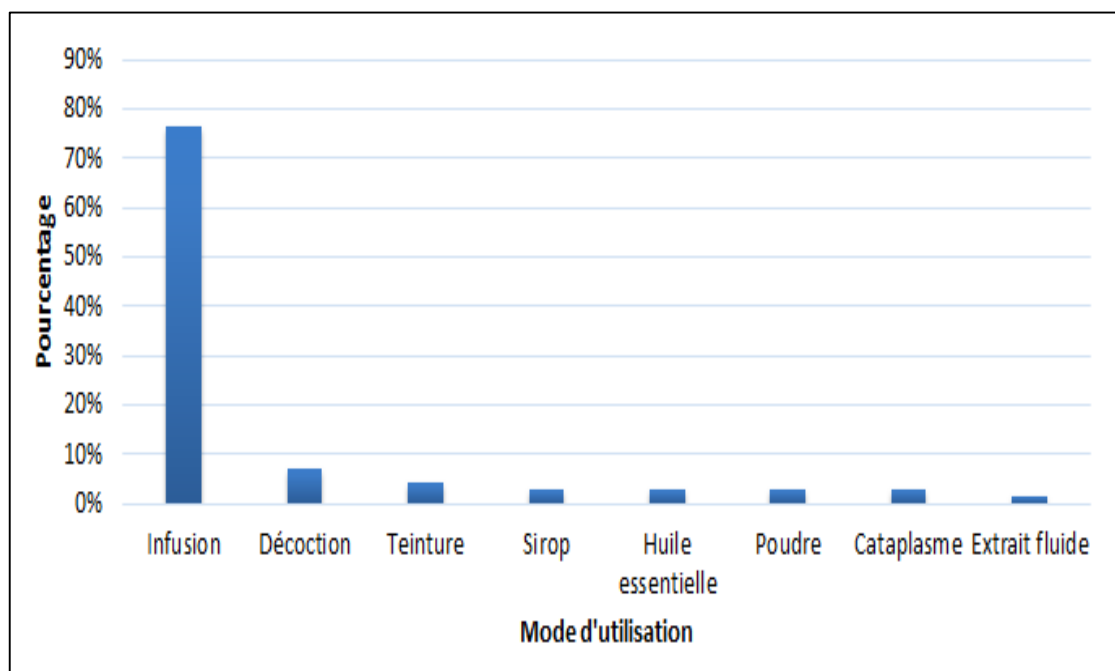
- Tous les enquêtés déclarent l'emploi des feuilles comme drogue du thym. Ces résultats ont été cités par la majorité des travaux réalisés dans ce contexte, citant par exemple le travail de Briguiche et *al.* en 2019 [295].

✓ **Modes d'utilisations de la plante (Thym)**

- Les modes d'utilisations du thym par les personnes interrogées sont résumés dans le tableau 28.

**Tableau 28 : Modes d'utilisations de la plante (Thym)**

Mode	Nombre	Pourcentage
Infusion	55	76,4%
Décoction	5	6,8%
Teinture	3	4,2%
Sirop	2	2,8%
Huile essentielle	2	2,8%
Poudre	2	2,8%
Cataplasme	2	2,8%
Extrait fluide	1	1,4%



**Figure 86 : Modes d'utilisations de la plante (Thym)**



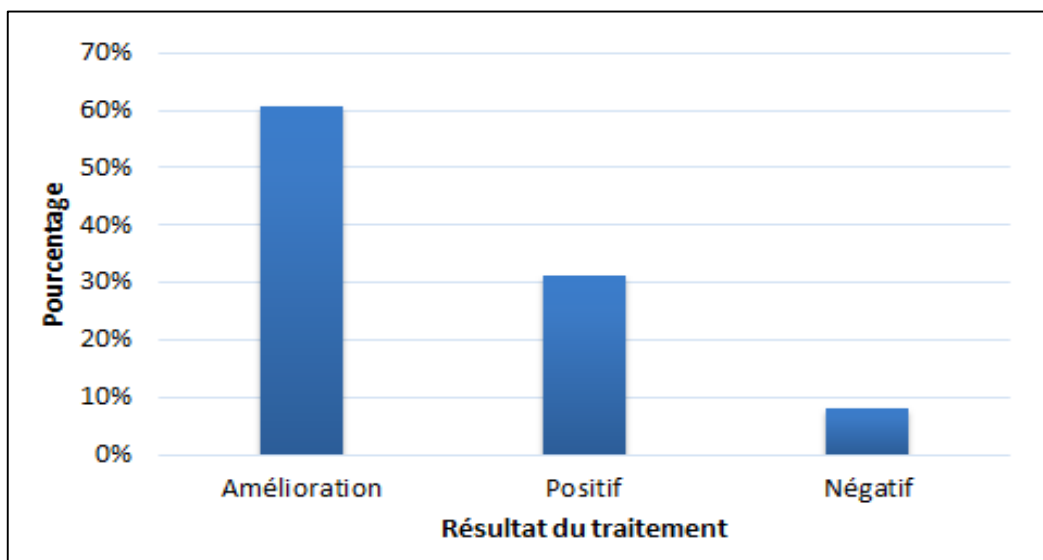
Le mode d'utilisation le plus répandu du thym est imposé par les infusions ; cela a été signalé aussi dans l'étude menée à Madrid par Sánchez et *al.* en 2020 [296]. Ce mode d'usage principal peut être suivi par l'emploi en décoction, ce qui concorde avec les données fournis par une étude menée par Orch et *al.* en 2020 [297].

✓ **Résultats du traitement par cette plante**

- Les résultats du traitement par le thym sont resumée dans le tableau 29.

**Tableau 29 : Résultats du traitement par cette plante (Thym)**

Résultat du traitement	Nombre	Pourcentage
Amélioration	37	60,7%
Positif	19	31,1%
Négatif	5	8,2%



**Figure 87 : Résultats du traitement par cette plante (Thym)**

La majorité des enquêtés ont rapportés une amélioration après l'utilisation du thym ; ce résultat cohère avec celui retrouvé dans l'étude menée par Mikou et *al.* en 2015 [292].

❖ **INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES SUR LES PLANTES MEDICINALES ETUDIEES « EUCALYPTUS »**

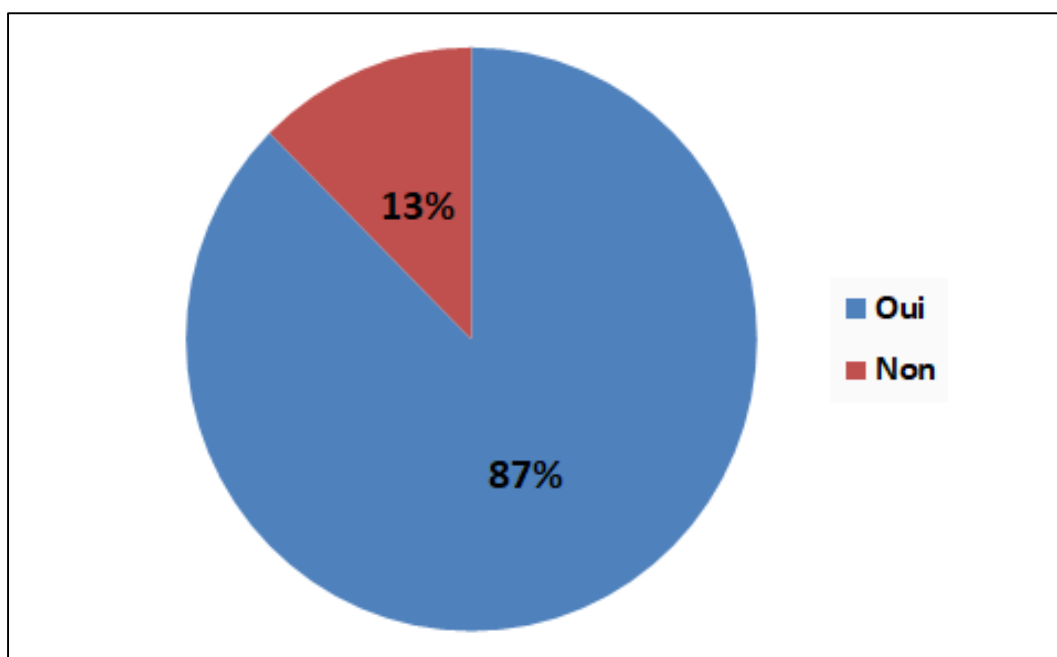
Il est à signaler que 56 personnes parmi les 173 interrogées dans cette troisième enquête ethnopharmacologique, ont répondu conformément apropos l'eucalyptus.

**✓ Connaissance de la plante (Eucalyptus)**

- La connaissance d'eucalyptus par les personnes interrogées est resumée dans le tableau 30.

**Tableau 30 : Connaissance de la plante (Eucalyptus)**

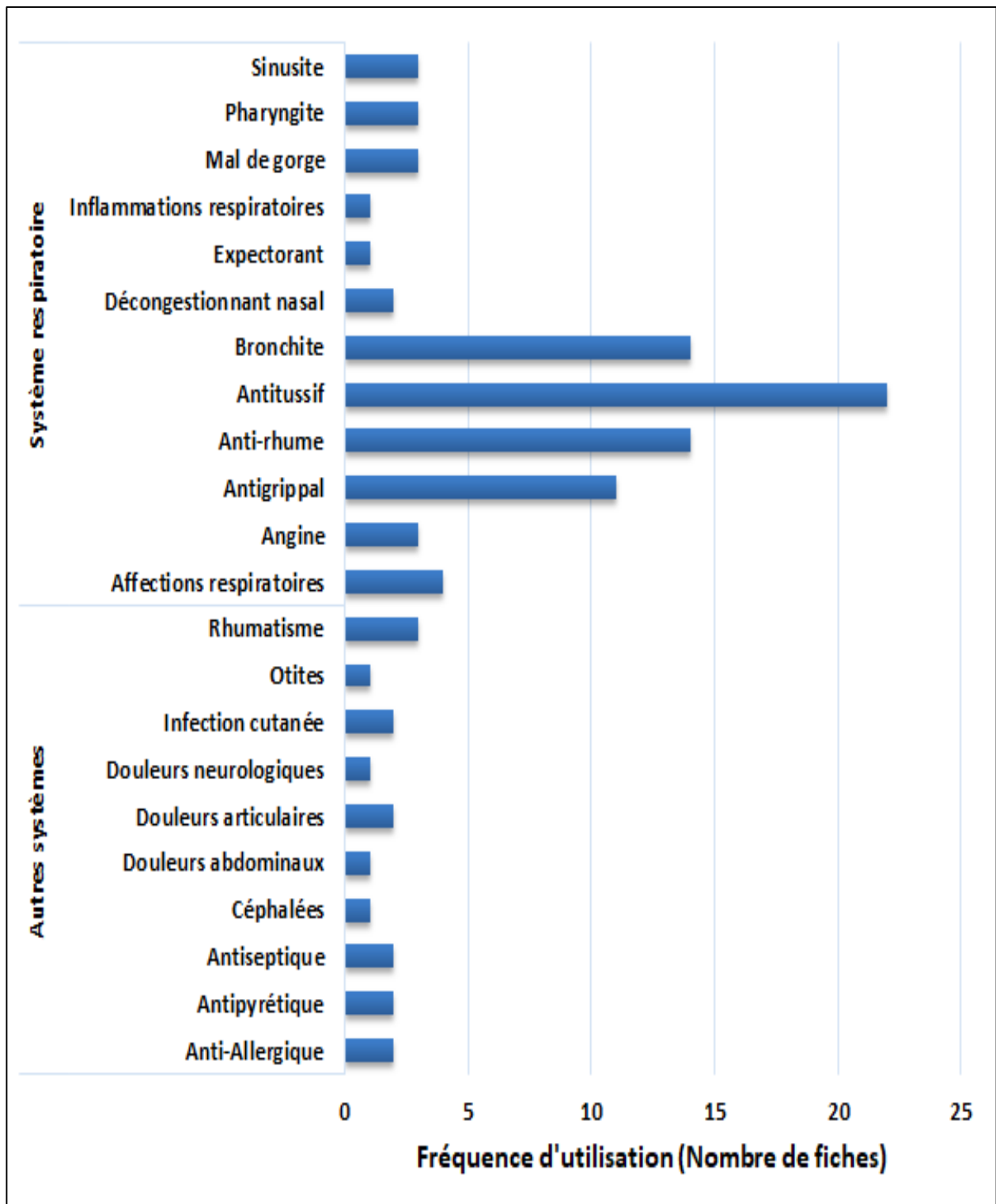
Connaissance de la plante	Nombre	Pourcentage
Oui	49	87,5%
Non	7	12,5%

**Figure 88 : Connaissance de la plante (Eucalyptus)****✓ Indications principales de la plante (Eucalyptus)**

- Les indications principales d'eucalyptus par les personnes interrogées sont resumées dans le tableau 31 et la figure 89.

Tableau 31 : Indications principales de la plante (Eucalyptus)

Systèmes	Indications	Nombre
Système respiratoire	Affections respiratoires	4
	Angine	3
	Antigrippal	11
	Anti-rhume	14
	Antitussif	22
	Bronchite	14
	Décongestionnant nasal	2
	Expectorant	1
	Inflammations respiratoires	1
	Mal de gorge	3
	Pharyngite	3
	Sinusite	3
Autres systèmes	Anti-Allergique	2
	Antipyrétique	2
	Antiseptique	2
	Céphalées	1
	Douleurs abdominales	1
	Douleurs articulaires	2
	Douleurs neurologiques	1
	Infection cutanée	2
	Otites	1
	Rhumatisme	3



**Figure 89 : Indications principales de la plante (Eucalyptus)**

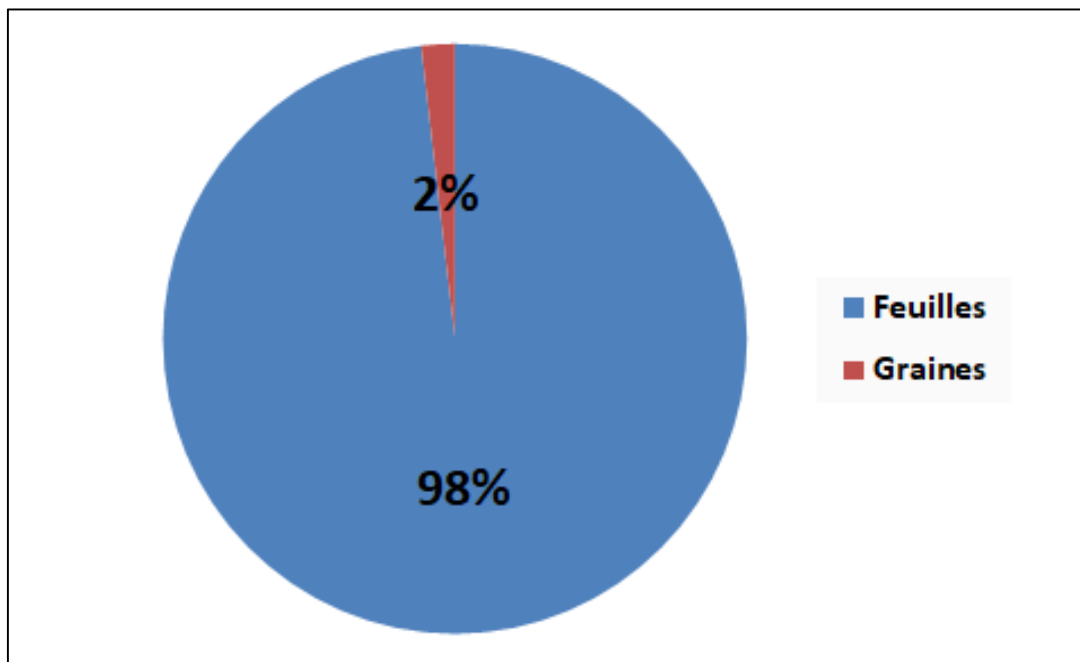
Selon les résultats de cette enquête, l'eucalyptus est utilisé essentiellement dans le traitement de maladies respiratoires diverses comme étant un antitussif, également en cas de bronchite, de rhume ou de grippe. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux trouvés par Briguiche et *al.* en 2019 [295] ; Orch et *al.* en 2020 [297] ; ainsi que par González et *al.* en 2010 [298].

✓ **Partie utilisée de la plante (Eucalyptus)**

- La partie utilisée de l'eucalyptus par les personnes interrogées est resumée dans le tableau 32.

**Tableau 32 : Partie utilisée de la plante (Eucalyptus)**

Partie de la plante	Nombre	Pourcentage
Feuilles	48	98%
Graines	1	2%



**Figure 90 : Partie utilisée de la plante (Eucalyptus)**

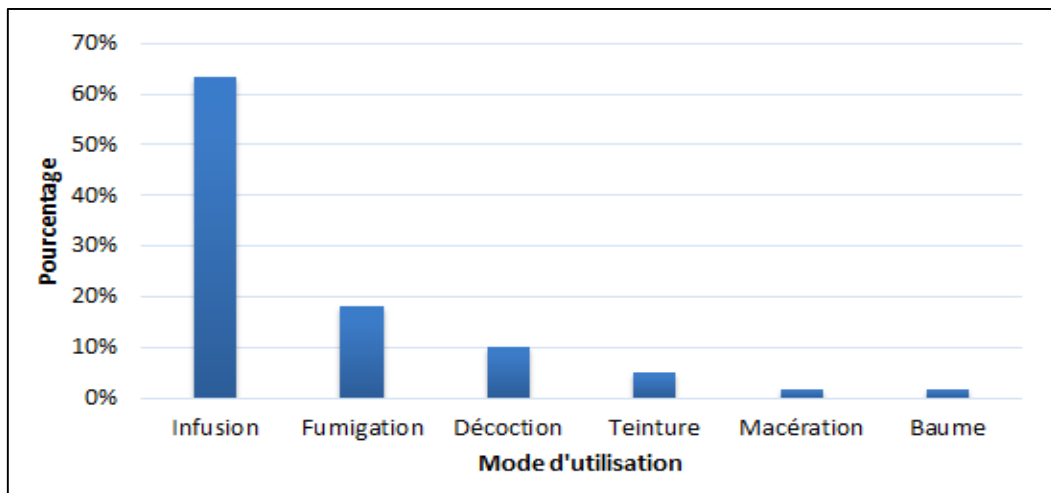
Selon cette enquête les feuilles d'eucalyptus sont les plus utilisées en médecine traditionnelle. Ces résultats sont également mentionnés dans l'étude faite par Orch et *al.* en 2020 [297].

✓ **Modes d'utilisations de la plante (Eucalyptus)**

- Les modes d'utilisation d'eucalyptus par les personnes interrogées sont resumés dans le tableau 33.

**Tableau 33 : Modes d'utilisations de la plante (Eucalyptus)**

Mode	Nombre	Pourcentage
Infusion	38	63,3%
Fumigation	11	18,3%
Décoction	6	10,0%
Teinture	3	5,0%
Macération	1	1,7%
Baume	1	1,7%



**Figure 91 : Modes d'utilisations de la plante (Eucalyptus)**

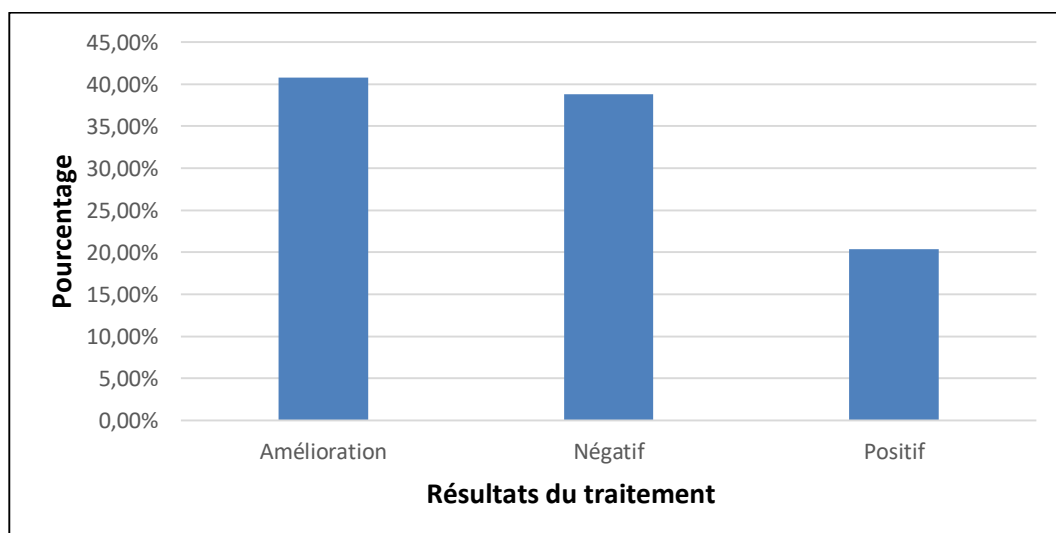
La majorité des enquêtés ont cité un usage majeur de l'eucalyptus en infusion ; en fumigation et en décoction. Ces résultats sont similaires aux réponses obtenues dans l'étude menée par Dahmani *et al.* en 2017 [294] ; et cela peut être expliqué par un usage traditionnel influencé par les ascendants.

✓ **Résultat du traitement par cette plante (Eucalyptus)**

- Les résultats du traitement par l'eucalyptus sont resumée dans le tableau 34.

**Tableau 34 : Résultat du traitement par cette plante (Eucalyptus)**

Résultat du traitement	Nombre	Pourcentage
Amélioration	20	40,8%
Négatif	19	38,8%
Positif	10	20,4%



**Figure 92 : Résultat du traitement par cette plante (Eucalyptus)**

La majorité des enquêtés ont rapportées une amélioration après l'utilisation d'eucalyptus, tout comme l'étude menée par Mikou et al en 2015 [292].

*À l'issue de cette enquête de confirmation, on constate que :*

- La majorité des personnes interrogées connaissent les trois plantes étudiées avec un taux de 98% pour la verveine (Figure 80) ; 100% pour le thym et 87% pour l'eucalyptus (Figure 88). Cette valeur élevée est sans aucun doute en relation avec la richesse de la zone d'étude en PMAs interrogées et à l'intérêt porté par sa population à leurs usages.
- Sur le nombre des enquêtées connaissant les PMAs étudiées, la grande majorité a rapporté son usage pour les affections respiratoire (Figure 81, 85, 89). Le reste de la population a cité différents usages notamment contre les maladies ostéoarticulaires, dermatologiques et digestives.
- La partie utilisée de la plante est représentée majoritairement par les feuilles avec un pourcentage de 98% pour la verveine et l'eucalyptus (Figure 82, 90) ; pour le thym seule la feuille est citée. Cependant, d'autres parties ont été indiquées telles que les graines et les fleurs mais à des taux très faibles.
- Les résultats ont montré que le mode de préparation le plus utilisé est l'infusion avec un pourcentage de 78,9% pour la verveine (Figure 83) ; 76,4% pour le thym (Figure 86) et 63,3% pour l'eucalyptus (Figure 91). Suivie de la macération pour la verveine avec un taux de 15,8% ; la décoction pour le thym à un taux de 6,9% et de la fumigation pour l'eucalyptus à un taux de 18,3%. Nous avons également observé d'autres modes d'utilisations moindres avec les trois plantes tels que les teintures, les sirops et les baumes.
- Les personnes ayant essayées ces trois plantes médicinales dans le traitement des différentes maladies de l'appareil respiratoire ont déclarés leurs satisfactions dans 98,2% des cas pour la verveine ; 91,8% pour le thym et 63% pour l'eucalyptus. Alors que 1,8% d'entre eux ont constaté que ce traitement n'était pas efficace pour la verveine (Figure 84) ; 8,2% pour le thym (Figure 87) et 37% pour l'eucalyptus (Figure 92).

Au terme de cette enquête, nous avons montré l'importance des PMAs et de leurs utilisations traditionnelles en infectiologie respiratoire dans le secteur Nord-Est Algérien.

### ❖ *EFFETS INDESIRABLES, PRECAUTION D'EMPLOI ET TOXICITE*

Aucun effet gênant par les traitements traditionnel n'a été signalé par les enquêtés. Tandis qu'un nombre minime de la population interrogée a noté l'amertume et un goût désagréable ; d'autres effets indésirables ont été également rapportés notamment en cas de prise de préparations par voie orale (irritation de la gorge, nausées, troubles digestifs, coliques, brûlures d'estomac...). Un pourcentage faible de la population questionnée a recommandé un usage limité de ce traitement par voie orale, à ne pas utiliser à des doses élevées et à éviter en cas de grossesse.

Enfin, les résultats des trois enquêtes ethnopharmacologiques pratiquées ont montré que 100% de la population interrogée, indique l'absence de toxicité de PMA dans tous les cas étudiés.

### ❖ *DIFFICULTES RENCONTRES*

Les problèmes les plus envisagés durant les trois enquêtes étaient :

- Le déplacement vers plusieurs wilayas du Nord-est Algérien.
- L'absence souvent du bon informateur.
- La méfiance fréquente des bons informateurs pour fournir des données de valeur sur les plantes étudiées.



# **CHAPITRE VI**

## ***MATERIELS & METHODES***

## VI.1. MATERIEL VEGETAL

Les plantes sélectionnées ont été récoltées, selon un calendrier fixé à l'avance par les herboristes, dans différentes régions du Nord-Est Algérien. La cueillette a été effectuée sur deux années successives (2018 et 2019) (Tableau 35).

**Tableau 35 : Approvisionnement du matériels végétaux à partir de plantes médicinales étudiées**

Plante	Partie récoltée	Lieu	Période / stade de développement	N° Voucher specimen
<i>Eucalyptus globulus</i> L.	Feuilles	Filfila / Skikda	Juin/stade floraison	PGC-93-2018
<i>Thymus capitatus</i>	Feuilles, sommités fleuries	Aïn Bouziane / Constantine	Mai/stade floraison	PGC-94-2018
<i>Origanum vulgare</i>	Feuilles, sommités fleuries	Aïn Bouziane / Constantine	Mai/stade floraison	PGC-95-2018
<i>Aloysia triphylla</i>	Feuilles, sommités fleuries	Collo / Skikda	Aout/stade floraison	PGC-96-2018

A signaler que pour chaque plante à étudier, la récolte est conduite sur une trentaine de pieds individuels afin d'avoir une représentativité de nos échantillons.

L'authentification botanique initiale de l'ensemble des plantes récoltées a été réalisée macroscopiquement à l'état frais avec la collaboration de Pr CHEFROUR Azzedine (Professeur en Botanique de l'Université de Souk Ahras -Algérie-).

- **Données GPS du lieu de récolte de la verveine**

Latitude (6°32'32'') et longitude (37°00'01'').



**Figure 93 : Position de point de récolte et photo d'une touffe de la verveine (*Aloysia triphylla*.)**



- Données GPS du lieu de récolte du thym et d'origan

Latitude (6°46'50'') et longitude (36°32'59'').

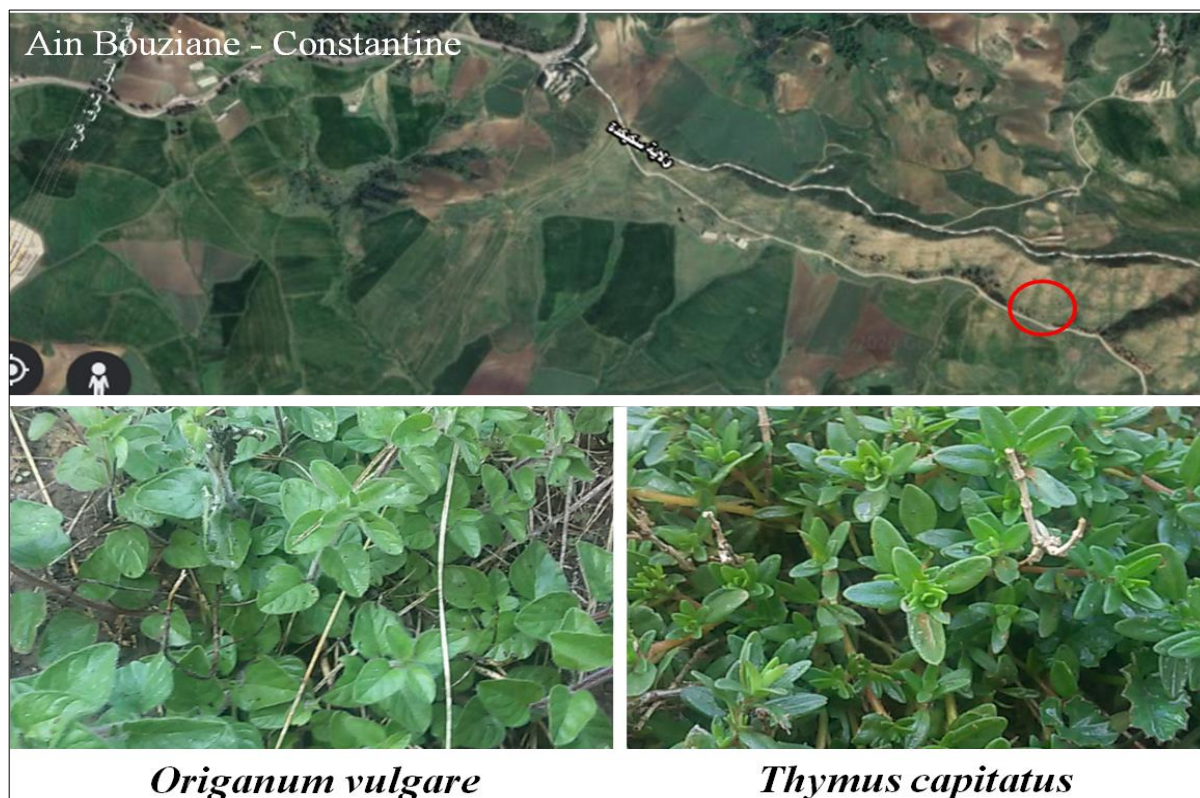


Figure 94 : Positions de points de récolte GPS et photos de l'origan (*Origanum vulgare.*) ; et le thym (*Thymus capitatus.*)

- Données GPS du lieu de récolte d'Eucalyptus

Latitude (7°08'07'') et longitude (36°53'13'').



Figure 95 : Position de point de récolte et photo d'une branche fleurie d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus.*)

L'échantillon d'eucalyptus concerné par des études postérieures est constitué exclusivement de feuilles ; celui du thym et l'origan, ainsi que la verveine comporte des feuilles et des sommités fleuries.



**Eucalyptus**  
[*Eucalyptus globulus*]



**Origan**  
[*Origanum vulgare*]



**Verveine**  
[*Aloysia triphylla*]

**Figure 96 : Quelques drogues végétales des plantes médicinales sélectionnées**

Pour les quatre plantes étudiées, le matériel végétal a été séché à l'ombre, emballé et étiqueté. La conservation des drogues a été faite dans un endroit sec et ventilé, à l'abri des rayons solaires jusqu'à l'analyse.

Le voucher specimen de chacune des plantes a été documenté et déposé au niveau de l'herbier du laboratoire de Pharmacognosie du département de Pharmacie de Constantine.

## VI.2. ESSAIS BOTANIQUES

Les feuilles des trois plantes étudiées ont fait l'objet d'un examen botanique. Le matériel utilisé dans ces essais est décrit dans le tableau 36.

**Tableau 36 : Matériels utilisés dans les études botaniques**

Instruments	Réactifs
- Microscope optique (Optika ®).	- Ethanol absolue (lot : K48572883649).
- Loupe binoculaire (Carl Zeiss Jena ®).	- Hydrate chloral (lot : SZBA0470).
- Broyeur électrique à couteau (Retsch ®).	- Eau de javel (lot : N 0001).
	- La soude NaOH (lot : 243-ch017).
	- Acide acétique (Product code : 101132500).
	- Vert de Méthyl (Product code : 401000010).
	- Carmin (Lot : 252063880).



## VI.2.1. EXAMEN MACROSCOPIQUE

### VI.2.1.1. Test morphologique

Des échantillons de chacune des drogues végétales ont été examinés séparément à l'œil nu et à l'aide d'une loupe binoculaire (Carl Zeiss Jena®). Leurs dimensions ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée en déduisant la moyenne de 3 déterminations.

### VI.2.1.2. Test organoleptique

Les caractères organoleptiques suivants : couleur, saveur et odeur ont été vérifiés dans ce test pour chacune des 4 drogues végétales.

## VI.2.2. EXAMEN MICROSCOPIQUE

Cet examen microscopique a porté à la fois sur des coupes anatomiques et sur les poudres des feuilles.

### VI.2.2.1. Coupes histologiques (Technique de la double coloration)

#### *Principe*

L'étude histologique de coupes a été effectuée selon une procédure standard ; sur une coupe aussi fine que possible, on fait agir successivement des solutions d'hypochlorite de sodium et d'acide acétique dilué. Les contenus intracellulaires sont détruits, les parois sont respectées. En faisant agir simultanément ou successivement le vert de méthyle et le carmin ; les parois celluloses se colorent en rose, les parois lignifiées ou sclérifiées se colorent en vert. Les coupes transversales sont réalisées à l'aide d'une lame de rasoir neuve, elles doivent être aussi fines que possible et parallèles au plan de la coupe. Les coupes doivent être immédiatement recueillies dans l'eau, et elles ne doivent pas se déshydrater.

#### *Technique*

Les coupes sont placées successivement dans les bains suivants :

- L'eau de javel dilué à 1/3 (pendant 15 à 20 min) ; pour vider le contenu intracellulaire des tissus.
- L'eau additionnée de quelques gouttes d'acide acétique pendant 5 min pour la neutralisation de l'excès de l'eau de javel et la fixation des colorants.
- Le vert de méthyle (pendant 3 min) ; colore les parois lignifiées ou tubérisées en vert, bleu, ou violet selon le degré de lignification de la paroi comme celle du bois et du sclérenchyme.
- Le Carmin (10 à 15min) ; colore les parois celluloses en rose (caractéristique du parenchyme cellulosique, du liber et du collenchyme).

- Un lavage à l'eau distillée est préconisé après chaque étape (sauf après l'étape de l'acide acétique). Les coupes sont montées entre lame et lamelle avec une goutte d'eau distillée et observées au microscope optique au G x 4, G ×10 puis G ×40 [299].

#### VI.2.2.2. Poudres

Les quatre drogues ont été préalablement pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique à couteau avant l'observation microscopique.

L'examen a été pratiqué avec une très faible quantité de poudre végétale déposée sur une lame porte objet, délayée dans une goutte de réactif éclaircissant (hydrate chloral) selon les recommandations de la pharmacopée européenne 7<sup>ème</sup> édition.

L'analyse sous microscope s'est faite d'abord au faible grossissement G×4, G×10 ; puis au fort grossissement G×40 [300].

**VI.3. ESSAIS PHYSICO-CHIMIQUES****VI.3.1. EXTRACTION ET OBTENTION DES HUILES ESSENTIELLES**

La distillation des huiles essentielles a été menée par entraînement à la vapeur d'eau utilisant un appareil type Clevenger. Pratiquement 100 g de chacune des drogues végétales a été distillée pendant une durée de deux à trois heures. Les huiles essentielles récupérées ont été séchées (à l'aide de sulfate de sodium anhydre –SIGMA.ALDRICH, Lot : 80080-) et leur quantité (en millilitre et en gramme) déterminée à l'aide du dispositif d'extraction, d'une éprouvette graduée et d'une balance analytique (KERN Seri N : 1215250817D). Les huiles essentielles sont conservées à 4°C à l'abri de la lumière dans des flacons en verre ombré jusqu'à l'analyse (Figure 97).



**Figure 97 : Extraction et calcul de rendement en HES**

### VI.3.2. CALCUL DU RENDEMENT

Le calcul des rendements s'est fait selon deux approches différentes, celle de la pharmacopée européenne et l'Association Française de Normalisation (AFNOR).

Les valeurs moyennes des rendements ont été calculés sur la base de quatre déterminations.

- Selon les normes de la pharmacopée européenne, le rendement en huile essentielle (Rd HE) est calculé en ml/kg de la drogue par la formule suivante :

$$\text{Rd HE (ml/kg)} = \text{Rd}_t \text{ HE} \times 1000 / \text{M}_t$$

$\text{Rd}_t$  = le rendement total en HE (ml).

$\text{M}_t$  = la masse totale de la drogue (g).

- Selon la norme **AFNOR (1986)** ; le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE obtenue et la masse de la matière végétale sèche utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rd HE (\%)} = \text{M}_{\text{HE}} / \text{M}_t \times 100$$

$\text{M}_{\text{HE}}$  = la masse totale de l'HE (g).

$\text{M}_t$  = la masse totale de la matière végétale utilisée (g).

### VI.3.3. CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

Ces essais ont porté sur la détermination de l'indice de réfraction, la densité relative, l'indice d'acide et la miscibilité à l'éthanol selon les méthodes préconisées par l'AFNOR. Les mesures de ces paramètres ont été réalisés dans le service de chimie (CRAPC Bousmail –Tipaza / Algérie) et le laboratoire de chimie analytique (département de pharmacie de Constantine).

- ❖ **Matériels et réactifs** : le matériel de base utilisé pour la caractérisation physicochimique (indice de réfraction, densité relative, indice d'acide et miscibilité à l'éthanol) des quatre extraits d'huiles essentielles est représenté par :

- Réfractomètre (ATAGO CO., LTD numéro de série : 922420)
- Balance analytique (KERN, numéro de série WB13AB0029)
- Indicateur phénolphtaléine (PROLABO, Lot 84048)
- Ether de pétrole (SIGMA-ALDRICH, SZBD3010V)
- Hydroxyde de potassium (BIOCHEM, 316251000)
- Ethanol 96 % (BIOCHEM 205042500)



## ❖ Mesures

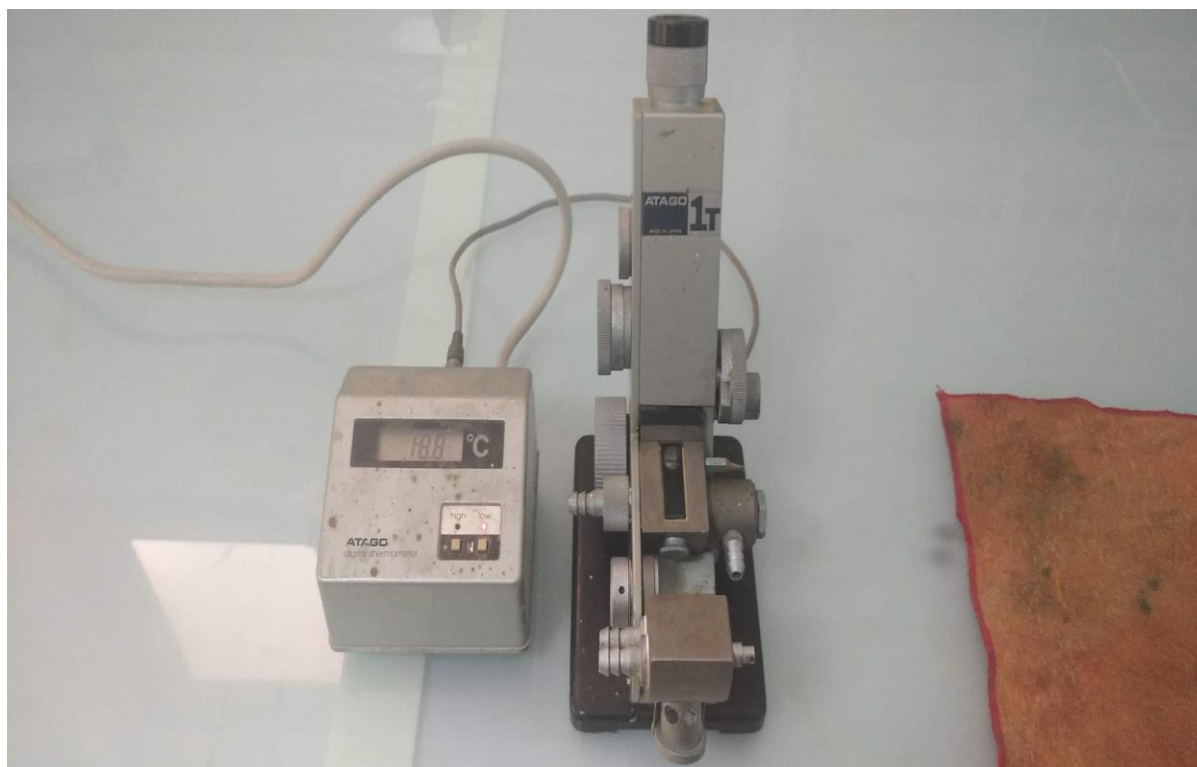
**VI.3.3.1. Indice de réfraction : (AFNOR NF T 60-212)**

La mesure de l'indice de réfraction ( $\eta_D^{20}$ ) a été réalisée à l'aide d'un appareil (Réfractomètre ATAGO CO., LTD numéro de série : 922420), (Figure 98) ; selon un protocole précédemment décrit. L'étalonnage de l'appareil a été effectué avec de l'eau distillée.

L'indice de réfraction est calculé d'après la formule suivante :

$$\eta_D^{20} = \eta_D^{t1} - f(20-t1)$$

**f** : Coefficient de température, pour les huiles essentielles  $f = 0.00035$



**Figure 98 : Réfractomètre (ATAGO CO., LTD numéro de série : 922420)  
- Courtoisie du CRAPC Bousmail / TIPAZA -**

**VI.3.3.2. Densité relative : (AFNOR NF T 60-214)**

La densité relative exprime le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C sur la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température.

Les pesées successives de volumes égaux d'huile essentielle et d'eau ont été effectuées à la température de 20°C, utilisant une balance analytique.

La densité relative est donnée par la formule ci-dessous :

$$d_{20}^{20} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)}$$

**m0** : Masse (g) du pycnomètre vide.

**m1** : Masse (g) du pycnomètre rempli d'eau.

**m2** : Masse (g) du pycnomètre rempli d'huile essentielle.

### VI.3.3.3. Indice d'acide: (AFNOR NFT 75 – 103. 2000)

L'indice d'acide représente le nombre en milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g d'huile essentielle.

*1<sup>ère</sup> étape* : On neutralise 50ml d'un mélange à volumes égaux d'éthanol à 96 % et d'éther de pétrole. Dans la burette, on met une solution d'hydroxyde de potassium (0,01M), préparé comme suit (Tableau 37) :

**Tableau 37 : Préparation de la solution de KOH**

Préparation de la solution de KOH		
m (KOH)	5,5706	g
V (H <sub>2</sub> O)	100	mL
C	55,706	g/L
Mr	56,1	Masse molaire
M	0,993	Mol/L
Dilution 10/1000	0,010	Mol/L

Puis on vérifie le titre de la solution de KOH préparée (Tableau 38) :

**Tableau 38 : Vérification du titre de la solution de KOH**

Vérification du titre de la solution de KOH		
V (HCl)	10	mL
V (KOH) 1	13	mL
V (KOH) 2	12,9	mL
V (KOH) 3	13	mL
V (KOH) moy	12,96667	mL
M (KOH)	0,008426	M

Dans la fiole conique : On met le mélange de solvants à neutraliser et 0,5ml de la solution de phénolphaléine (mélange incolore en milieu acide). La solution d'hydroxyde de potassium est versée goutte à goutte jusqu'au virage de la couleur au rose persistant.

2<sup>ème</sup> étape : Détermination de l'indice d'acide.

On dissout 1 g d'huile essentielle dans 50 ml du mélange éthanol à 96 % et d'éther de pétrole neutralisé. Après dissolution, On titre la solution contenant l'huile essentielle par la solution d'hydroxyde de potassium 0,0084 M. Le titrage est terminé lorsque la couleur rose pâle persiste pendant au moins 15 s. On note alors le volume de KOH, et l'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$$IA = \frac{c.V \ 56,1}{PE}$$

**IA** : indice d'acide.

**C** : concentration en Mol par L de la solution KOH.

**V** : volume de la solution de KOH (mL). **PE** : prise d'essai de l'huile essentielle (g).

**56,1** : masse molaire de KOH.



**Figure 99 : Titrage pour calcul de l'indice d'acide**

**VI.3.3.4. Miscibilité à l'éthanol : (Pharmacopée européenne 10<sup>ème</sup> édition)**

La miscibilité à l'éthanol a été réalisée selon le protocole de la Pharmacopée européenne 10<sup>ème</sup> édition. Pratiquement, l'huile essentielle (1 mL) a été introduit dans une éprouvette à bouchon rodé de 25 à 30 mL. L'éthanol à 70%, est ajouté par fraction de 0,1 mL jusqu'à dissolution complète de L'HE.

Et on continue à ajouter le solvant par fractions de 0,5 mL jusqu'à 20 mL, en agitant fréquemment et énergiquement. On note le volume d'alcool utilisé lorsqu'une solution limpide a été obtenue, et si la solution devient trouble ou opalescente avant que le volume ajouté n'atteigne 20 mL, on note le volume utilisé au moment de l'apparition du trouble ou de l'opalescence puis, le cas échéant, au moment de la disparition du trouble ou de l'opalescence.

**VI.3.4. ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES PAR CPG/SM**

L'analyse chromatographique CPG-MS des huiles essentielles étudiées a été réalisée par un système Agilent HP-5MS (*Hewlett Packard Agilent 6890 plus*), couplé à un spectromètre de masse (*Hewlett Packard Agilent 5973*), (Figure 100) selon les conditions opératoires suivantes :

**Injecteur :**                   Température : 250°C. , Mode d'injection : Splitless. , Volume injecté : 0,2µl.

**Colonne :**                    Type : HP-5MS. Dimensions : de 30m (longueur), 0,25 mm (diamètre) et 25µm (épaisseur du film). Phase stationnaire : 5% Phényle, 95% diméthylpolysiloxane. Température du four : 60°C pendant 8min, 2°C/min jusqu'à 250°C, isotherme pendant 10min. Durée d'analyse : 113 min. Gaz vecteur : Hélium Pureté : N6. Débit GV : 0,5 ml/min.

**Détecteur de masse :**                   Mode d'analyse : Scan TIC (de 30 à 550)  
Délai du solvant : 3,5 min.  
Température de l'interface-transfert line : 270°C.  
Type d'ionisation : Impact électronique  
Intensité du filament : 70 év.  
Type de l'analyseur de masse : Quadripôles.



**Figure 100 : Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse HP-5MS (CPG/SM) -Courtoisie de CRAPC. Bousmail / TIPAZA-**

Les divers constituants d'HE, ont été identifiés par leurs indices de rétention (indices de Kovats) (IR) calculés par rapport aux temps de rétention d'un mélange d'alcane linéaires C<sub>6</sub>-C<sub>30</sub> en comparant leurs spectres de masse avec ceux stockés dans les deux bibliothèques [Wiley 275 et Nist 0.5]. Les IR ont été aussi justifiés en se référant à la littérature [Adams, 2007].

## VI.4. ESSAIS BIOLOGIQUES

Les tests biologiques ont été effectués sur les huiles essentielles étudiées et ont concernés l'activité analgésique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antioxydante et inhibitrice d'enzyme, ainsi qu'un essai de toxicité et une étude « *in silico* ».

### VI.4.1. TESTS « *IN VIVO* »

Les tests « *in vivo* », concernant les activités analgésique et anti-inflammatoire des huiles essentielles des plantes étudiées, ont été déterminées chez les souris, utilisant des méthodes précédemment décrites (Tableau 39).

**Tableau 39 : Tests utilisés pour l'évaluation des activités analgésique et anti inflammatoire**

Activités évaluées	Tests utilisés
Activité analgésique	- Test de <i>Tail Flick</i> couplé à l'Analgésimètre [301].
Activité anti-inflammatoire	- Protocol de <i>Levy</i> [302]. - Pléthysmomètre [309-311].

#### VI.4.1.1. Matériels

##### ➤ Matériel animal (Provenance des animaux)

Des souris albinos de souche Swiss, mâles, adultes, en bonne santé, pesant entre 24 et 34g (âgées d'environ 3 à 4 mois) et issues d'élevage de l'animalerie du département de pharmacie de Constantine ont été utilisés. Les animaux ont été gardés en quarantaine dans des cages en plastique soumis à un rythme d'éclairage nocturne diurne (12 heures d'éclairage, 12 heures d'obscurité) avec un accès libre à l'eau et la nourriture pendant plusieurs jours au laboratoire avant la réalisation des tests (acclimatation aux conditions de laboratoire selon les recommandations de l'OMS). La veille de l'expérience, la nourriture a été retirée des cages mais l'eau a été donnée à volonté.

Tous les animaux ont été manipulés et les expériences ont été menées conformément aux lignes directrices pour l'expérimentation animale.





**Figure 101 : Souris albinos mâles (souche SWISS)**

➤ **Instruments et réactifs**

L'ensemble d'instruments et produits utilisés dans les tests biologiques *in vivo* à visée l'activité analgésique et antiinflammatoire est résumé dans le tableau 40.

**Tableau 40 : Matériels utilisés dans les études pharmacologiques**

Instruments	Produits
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Balance analytique (KERN Seri N : 1215250817D).</li> <li>- Analgésimètre (BIOSEB, série 180422).</li> <li>- Pléthysmomètre (BIOSEB LE 7500 série N<sup>o</sup> :2763718).</li> <li>- Micropipette (ISOLAB Laborgerate Gmbh).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- L'HE de chaque plante.</li> <li>- Chloroforme (Lot # STBF1452V).</li> <li>- Véhicule : Huile d'olive vierge</li> <li>- Substance pro inflammatoire : Carraghénine.</li> <li>- Substance anti inflammatoire : Acide acétyle salicylique.</li> <li>- Eau distillée.</li> </ul>
<p><b>Logiciels d'analyse et traitement statistique</b></p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ logiciel IBM SPSS statistics version 21.</li> </ul>	

### VI.4.1.2. Détails des protocols

- **Préparation des animaux**

Pour chaque test, les souris ont été réparties, en fonction de leurs poids, en 6 lots de 7 souris chacun, (un lot témoin négatif, un lot témoin positif, et quatre lots traités).

- **Préparation des solutions et modalités d'administration**

Les solutions à base d'huile essentielle à tester ont été préparées préalablement. Leurs concentrations ont été calculées à partir du poids moyen des souris de chaque lot. L'administration de 0,5 mL par souris de chaque dilution de solution à tester a été faite par gavage à l'aide d'une sonde gastrique selon une méthodologie précédemment décrite [303-307].

- **Tests réalisés**

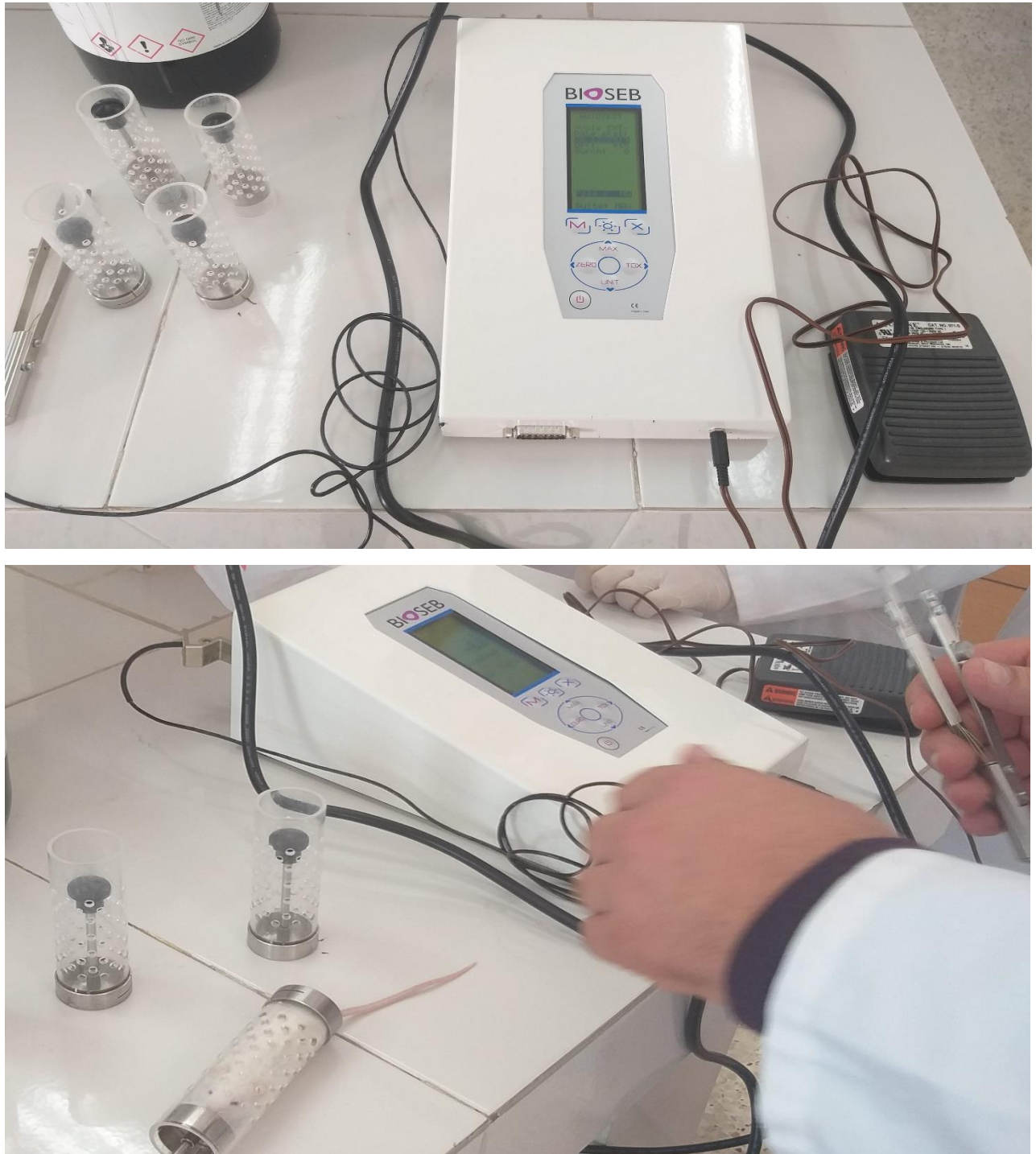
#### VI.4.1.2.1. *Évaluation de l'activité analgésique*

- ✓ **Méthode de Tail-Flick (Analgésimètre)**

L'activité analgésique des huiles essentielles a été évaluée par le test du coup de queue (Tail-Flick test) utilisant un analgésimètre numérique (BIOSEB, série 180422, figure 102) selon une méthode décrite précédemment. Pratiquement, une pression mécanique progressive est appliquée à l'aide d'une pince sur la queue de la souris. L'instrument numérique affiche la force, exprimée en *Newtons*, à laquelle l'animal réagit, soit par un cri ou en retirant la queue, et détermine ainsi le seuil nociceptif [301].

**Analgésimètre** : L'analgésimètre numérique est l'instrument destiné à étudier l'effet analgésique de la douleur en enregistrant le maximum de force nécessaire pour avoir une réponse positive. Ceci est réalisé en appuyant sur la pédale dès qu'on observe un mouvement brusque de la souris [301].





**Figure 102 : Analgésimètre (BIOSEB, série 180422) et modalité d'évaluation de l'activité analgésique**

- **Constitution des lots et administration des traitements**

Les animaux ont été assignés au hasard pour constituer six (6) lots de 7 souris. Pour déterminer le seuil du réflexe nociceptif chez la souris qui permet de quantifier l'effet analgésique d'extraits d'HEs, les animaux ont reçu par gavage à l'aide d'une sonde gastrique les traitements suivants :

- 4 lots traités : souris recevant par gavage 0,5 mL d'une solution d'HE dans l'huile d'olive (selon les concentrations reportées dans le tableau 41) une demi (½) heure avant la mesure par l'analgésimètre ;
- 1 Lot témoin (+) : souris recevant par gavage 0,5 mL d'une solution d'acide acétylsalicylique (AAS) dissous dans l'eau à 400 mg/kg, p.c. une demi (½) heure avant la mesure par l'analgésimètre ;
- 1 Lot témoin (-) : souris recevant par gavage 0,5 mL d'huile d'olive une demi (½) heure avant la mesure par l'analgésimètre.

**Tableau 41 : Concentrations testées des huiles essentielles étudiées**

Traitement	Concentration (mg/kg de p.c. souris)	Ref.
Lot (HE verveine)	200	[305]
Lot (HE thym)	50	[304]
Lot (HE origan)	300	[306]
Lot (HE eucalyptus)	200	[307]

○ **Lecture et traitement des données**

La valeur de la force nécessaire pour avoir une réponse positive obtenue pour chaque lot est exprimée en moyenne  $\pm$  écart type ( $n = 7$ ). La comparaison des groupes traités vs témoins a été faite par le test-t de Student ; le seuil de signification statistique a été fixé à  $P \leq 0,05$ . Le traitement statistique a été réalisé à l'aide du logiciel IBM SPSS statistics version 21.

**VI.4.1.2.2. Évaluation de l'activité antiinflammatoire**

Pour évaluer les effets des préparations des huiles essentielles sur l'inflammation aiguë, l'œdème de la patte induit par la carraghénine chez la souris a été utilisé. L'effet anti-oedémateux des huiles essentielles a été évaluée à la fois par le protocole de Levy et la technique du pléthysmomètre selon des méthodologies précédemment décrites.

○ **Constitution des lots et administration des traitements**

Les animaux ont été assignés en fonction de leurs poids pour constituer six (6) lots de 7 souris. Afin d'évaluer l'effet des huiles essentielles sur l'inflammation induite par la carraghénine, les animaux ont reçu par gavage à l'aide d'une sonde gastrique les traitements suivants :

- 4 Lots traités : souris recevant par gavage 0,5 mL d'une solution d'HE dans l'huile d'olive (selon les concentrations reportées dans le tableau 41) une demi (½) heure avant l'injection intra-plantaire de carraghénine dissoute dans l'eau (0,5% m/v) au niveau de la patte droite du cobaye ;
- 1 Lot témoin (+) : souris recevant par gavage 0,5ml d'une solution d'acide acétylsalicylique (AAS) dissous dans l'eau à (400 mg/kg, p.c.) une demi (½) heure avant l'injection intra-plantaire de carraghénine dissoute dans l'eau (0,5% m/v) au niveau de la patte droite du cobaye ;
- 1 Lot témoin (-) : souris recevant par gavage 0,5 mL l'huile d'olive une demi (½) heure avant l'injection intra-plantaire de carraghénine dissoute dans l'eau (0,5% m/v) au niveau de la patte droite du cobaye.

Pour chacune des souris, la patte gauche a reçu le même volume d'eau sans carraghénine (Contrôle négatif).

✓ **Protocole de Levy**

Ce test a été réalisé selon une procédure précédemment décrite. Quatre (4) heures après l'injection de la carraghénine, les souris ont été sacrifiées et les deux pattes (droite et gauche) sont soigneusement disséquées et pesées.

Le pourcentage d'inhibition d'œdème est calculé par la formule ci-dessous :

$$\% \text{ d'inhibition de l'œdème} = \frac{PO \text{ Tneg} - PO \text{ Test}}{PO \text{ Tneg}} \times 100$$

PO Tneg : Poids moyen de l'œdème du témoin négatif.

PO Test : Poids moyen de l'œdème du test.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème est obtenue pour chaque lot est exprimée en moyenne  $\pm$  écart type (n = 7). La comparaison des groupes traités vs témoins a été faite par le test-t de Student ; le seuil de signification statistique a été fixé à  $P \leq 0,05$ . Le traitement statistique a été réalisé à l'aide du logiciel IBM SPSS statistics version 21.

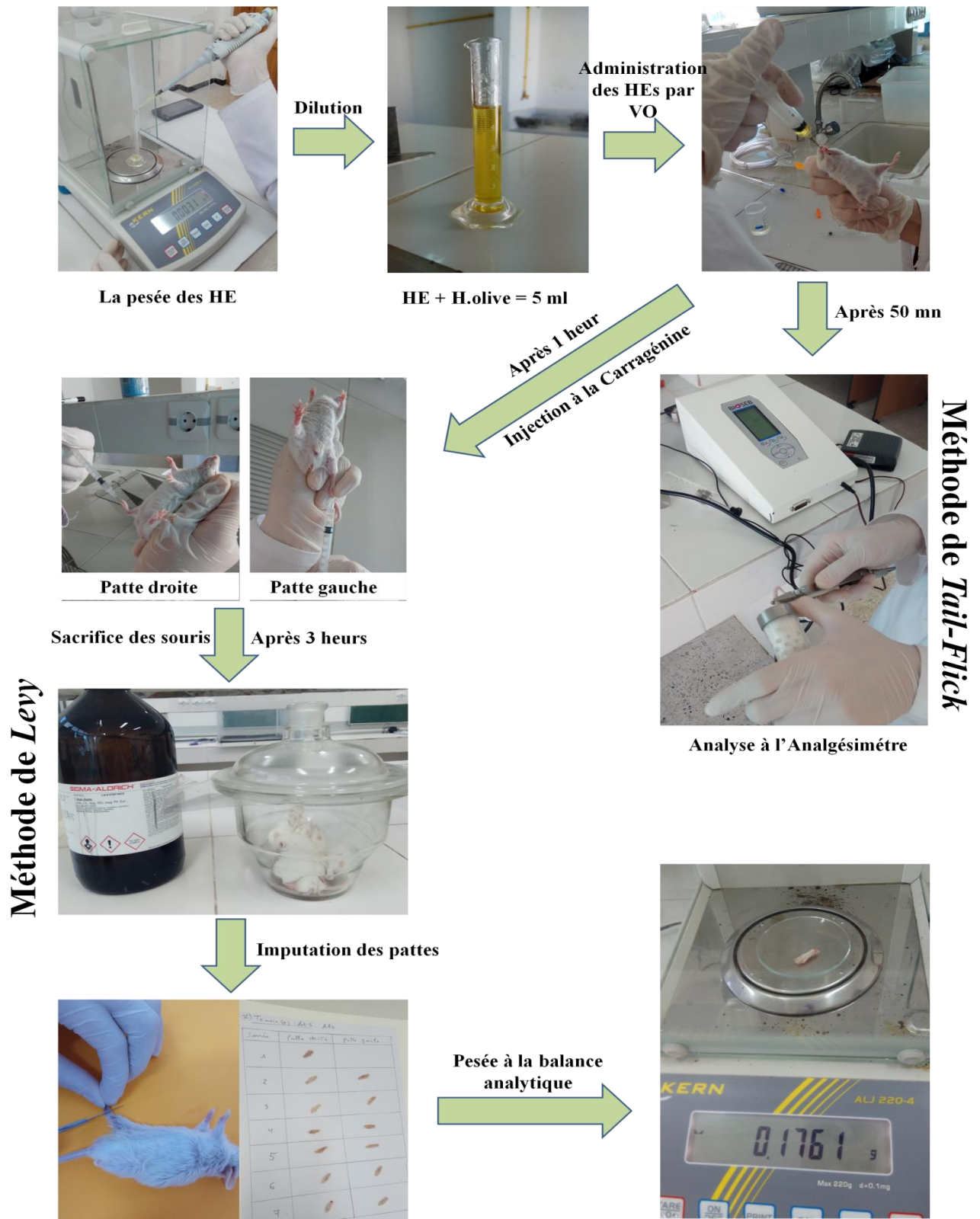


Figure 103 : Étapes de tests « *in vivo* » [Protocol de Levy et Analgésimètre]



✓ *Pléthysmomètre*

Le pléthysmomètre est une jauge d'œdème de la patte d'un rat ou d'une souris. Le principe de fonctionnement du pléthysmomètre repose généralement sur la loi d'Archimède « *Le déplacement du fluide de mesure lorsque la patte du rat est immergée dans le récipient de mesure, on connaîtra le volume de gonflement de la patte* ».

Un pléthysmomètre (BIOSEB LE 7500 Série série N0 : 2763718, figure 104) a été utilisé pour mesurer le volume de la partie immergée de la patte de la souris, selon la méthode décrite précédemment [309-311].



**Figure 104 : Pléthysmomètre (BIOSEB LE 7500 Série série N<sup>0</sup> : 2763718)**

Quatre (4) heures après injection de la carraghénine, le volume de la patte enflammée (patte droite) et non enflammée (patte gauche) de la souris sont placées séparément et successivement à l'intérieur du liquide dans la colonne d'une zone spécifique. Le volume est affiché par la suite pour chaque patte.

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

$$\% \text{ d'inhibition de l'œdème} = \frac{VO \text{ Tneg} - VO \text{ Test}}{VO \text{ Tneg}} \times 100$$

VO Tneg : Volume moyen de l'œdème du témoin négatif.

VO Test : Volume moyen de l'œdème du test.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème obtenue pour chaque lot est exprimé en moyenne  $\pm$  écart type ( $n = 7$ ). La comparaison des groupes traités vs témoins a été faite par le test-t de Student. Le seuil de signification statistique a été fixé à  $P \leq 0,05$  ; le traitement statistique a été réalisé à l'aide du logiciel IBM SPSS statistics version 21.

#### VI.4.2. TESTS « *IN VITRO* »

##### VI.4.2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des HE étudiées a été réalisée selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Bauer et *al.* 1966, NCCLS et *al.* 1993). Les tests ont été effectués au niveau du laboratoire de microbiologie médicale au centre hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine (CHUC).

- **Principe**

L'étude de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de Bauer [Bauer et *al.* 1966] et NCCLS [NCCLS et *al.* , 1993].

La méthode des aromatogrammes suivant la technique de CLSI (CLSI 2020 ) consiste à déposer des disques stérilisés de 6mm de diamètre (papier Wattman N° 3) imprégnés des dilutions d'extraits d'HEs à étudier, à la surface d'une gélose Mueller-Hinton dont l'épaisseur doit être de 4mm et préalablement coulée dans une boîte de pétri et ensemencée en utilisant un écouvillon avec le micro-organisme testé. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure à l'aide d'un pied à coulisse du diamètre (mm) de la zone circulaire claire autour du disque correspondant à une absence de développement (halo translucide), appelée : zone d'inhibition.

- **Origine Des Souches Microbiennes**

Les souches microbiennes testées sont :

- Des souches de référence (ATCC) ; souches de collection disponibles au laboratoire de microbiologie, CHU de Constantine (Collection de l'institut Pasteur, Tableau 42).
- Des souches hospitalières (SH) prélevées auprès de patients du CHU de Constantine, diagnostiqués d'une infection respiratoire présentant une sensibilité diminuée aux  $\beta$ -lactamines (Tableau 43). Les caractéristiques des souches cliniques ont été établies par le service de microbiologie médicale du CHU de Constantine selon une méthodologie standard [312].

**Tableau 42 : Liste et caractéristiques des souches microbiennes de référence**

Nom de la souche	N° ATCC	Morphologie	Gram	ATB témoin
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	COCCI	+	OXA/FOX
<i>Escherichia coli</i>	25922	BACILLE (entérobactérie)	-	Bétalactamines
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Bacille non fermentant	-	Bétalactamines/CA Z

OXA : Oxacilline ; FOX : Cefoxitine

**Tableau 43 : Liste et caractéristiques des souches microbiennes hospitalières**

Nom de la souche	Souches Hospitalières	Morphologie	Gram	ATB témoin
<i>Staphylococcus aureus</i>	METHI R	COCCI	+	OXA/FOX
<i>Staphylococcus spp</i>	PENI I	COCCI	+	PENI
<i>Escherichia coli</i>	CARBA R	BACILLE (entérobactérie)	-	IMP/ERT
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	BLSE	BACILLE (entérobactérie)	-	CTX
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TIC/IMP R	BACILLE NON FERMENTANT (BNF)	-	TIC/IMP
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ABRI	BACILLE NON FERMENTANT (BNF)	-	IMP
<i>Candida albicans</i>	10231	LEVURE	-	NT

**METHI R** : Methicilline Résistant ; **PENI I** : Penicilline Intermédiaire ; **CARBA R** : Carbenicilline Résistant ; **BLSE** : Productrices de béta-lactamases à spectre élargi ; **TIC/IMP R** : Ticarcilline/Imipeneme Résistant ; **ABRI** : Acinetobacter baumannii Résistant Imipeneme ; **PENI** : Penicilline ; **ERT** : Ertapeneme ; **CTX** : Cefotaxime ; **NT** : Non Testé

- **Milieux De Cultures**

Deux milieux de culture ont été utilisés, de la gélose nutritive pour le repiquage des bactéries et le Muller Hinton pour l'aromatogramme.

- **Repiquage**

Les souches microbiennes (bactéries et levure) à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, et incubées pendant 18 à 48 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des germes et des colonies isolées.

- ***Préparation Des Dilutions Des Hes***

Des solutions aqueuses de différentes concentrations en huiles essentielles (50%, 25%, 12,5% et 6,25%) additionnées de 1% de diméthylsulfoxyde (agent homogénéisant) ont été utilisées [313].

- ***Protocole Expérimental***

- Préparation des suspensions microbiennes (Inoculums)

- *Pour les bactéries* : les suspensions bactériennes ont été réalisées par prélèvement de 3 à 5 colonies bien isolées et identiques d'une culture jeune de 18h ; les mettre dans 10ml d'eau physiologique stérile et agiter au vortex pendant quelques secondes pour obtenir un inoculum à 0,5 Mac F de densité (Mesuré par un densitomètre -DENSIMAT BIOMERIEUX Réf IDN 009945-).

- *Pour la levure* : la préparation de l'inoculum pour les levures est la même que celle utilisée pour les bactéries sauf que, pour la levure, la culture était âgée de 48h.

- Ensemencement

L'ensemencement a été fait selon la technique préconisée à l'aide d'écouvillon sur des milieux de Muller Hinton, le seul milieu utilisé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- On essore l'écouvillon sur la paroi de tube.
- On ensemence la totalité de la surface gélosée en stries serrées, de haut en bas on tournant la boîte de pétri de 60°C à chaque fois.
- Enfin, on passe l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- Préparation et application des disques

Un volume de 5 µl de chaque dilution d'HE a été déposé à l'aide de micropipette sur des disques de 6 mm de diamètre de papier Watman (grade 3MM) préalablement stérilisés à l'autoclave. Chaque boîte Pétri préalablement ensemencée recevant 3 disques de chaque dilution d'huile essentielle. Par la suite, les boîtes ont été laissées sur la paillasse pendant une période de 30 mn pour permettre la diffusion de l'huile essentielle avant incubation.

- Solution contrôle et Antibiotiques témoins

Des disques contenant une solution aqueuse à 1% de DMSO sans huile essentielle et des ATBs témoins (Tableaux 42, 43) ont été utilisés comme contrôles.



Pour chacun des contrôles, le test a été réalisé en triplicata (n=3).

○ Incubation et lecture

L'incubation des boîtes a été faite dans une étuve réglée à une température de 37 °C pendant 18 à 24 h pour les bactéries (et 25 °C/48h pour les levures). Après la période d'incubation, la lecture a été faite par mesure des diamètres des halos d'inhibition autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Les valeurs sont reportées en millimètres (mm).

○ Niveau de sensibilité

Selon une échelle de notation symbolique allant de – à +++, et dont la lecture de sensibilité d'après (Meena et Sethi, 1994 ; Jeovetz et al. 2000) se fait comme suit :

- $\Phi < 10$  mm : Huile essentielle (HE) sans action inhibitrice (-).
- $16 > \Phi \geq 10$  mm : HE à une action inhibitrice intermédiaire (+).
- $25 > \Phi \geq 16$  mm : HE à une action inhibitrice importante (++).
- $\Phi \geq 25$  mm : HE à une action inhibitrice très efficace (+++) [314-316].

○ Traitement statistique

Les valeurs des diamètres d'inhibitions sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). Le traitement des données est effectué en utilisant le test-t de Student. Les résultats sont considérés significatifs pour ( $P \leq 0,05$ ).

#### **V1.4.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante**

L'évaluation du potentiel antioxydant des huiles essentielles étudiées a été réalisée par l'utilisation de quatre méthodes antioxydantes complémentaires.

- Galvinoxyl (**GOR**) [317],
- Acide 2,2'-azino-bis (3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (**ABTS**) [319],
- 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (**DPPH**) [321],
- Cuivre II – neocuproïne (**CUPRAC**) selon des méthodologies bien établies [323].

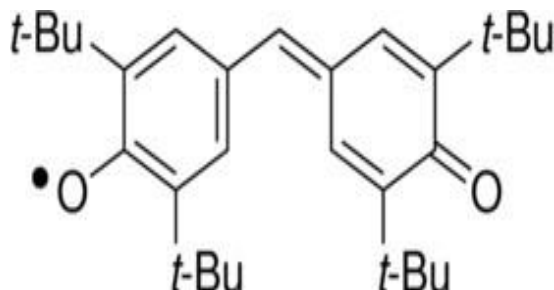
#### **1). Préparation des échantillons**

Une solution mère est préparée en diluant 4 mg de l'huile essentielle dans 1 mL de méthanol. A partir de cette solution mère (4mg/mL), six dilutions dans le même solvant sont obtenues : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 et 1/64.

## 2). Description des essais

### *VI.4.2.2.1. Test du radical galvinoxyl (GOR)*

Le Galvinoxyl radical (GOR) est considéré comme un radical libre relativement stable (Figure 105).



**Figure 105 : Structure chimique du radical galvinoxyl [318].**

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage du radical galvinoxyl (GOR). En présence de molécules dites antioxydantes, le GOR est transformé en sa forme réduite, ce qui conduit à une diminution de l'absorbance. La décoloration du GOR est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à le réduire.

Le protocole utilisé est celui décrit par Shi Noguchi et Niki (Shi et *al.*, 2001) [317]. La solution du réactif GOR (0,1mM) est préparée par solubilisation de 4 mg de ce produit dans 100 ml de méthanol. Dans une microplaque à 96 puits, un volume de 40  $\mu$ L de chaque dilution d'HE est ajouté à 160  $\mu$ L de la solution GOR. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 120 min et la lecture de l'absorbance est faite contre un contrôle négatif à 428nm. L'équation suivante a été utilisée pour calculer le pourcentage d'inhibition (%) du radical GOR :

$$\text{Inhibition GOR (\%)} = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

-  $A_0$  : absorbance du contrôle négatif ;

-  $A$  : absorbance de l'échantillon ou standard.

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre lecteur de microplaque (Marque : Enspire Perkin Elmer, USA).

La concentration de l'échantillon nécessaire pour diminuer de 50% l'absorbance du radical coloré ( $CI_{50}$ ) a été estimée en traçant les pourcentages d'inhibition vs les concentrations d'huiles essentielles. Tous les tests ont été effectués en triplicata et les valeurs  $CI_{50}$  ont été rapportées sous forme de moyennes  $\pm$  ET (n=3).

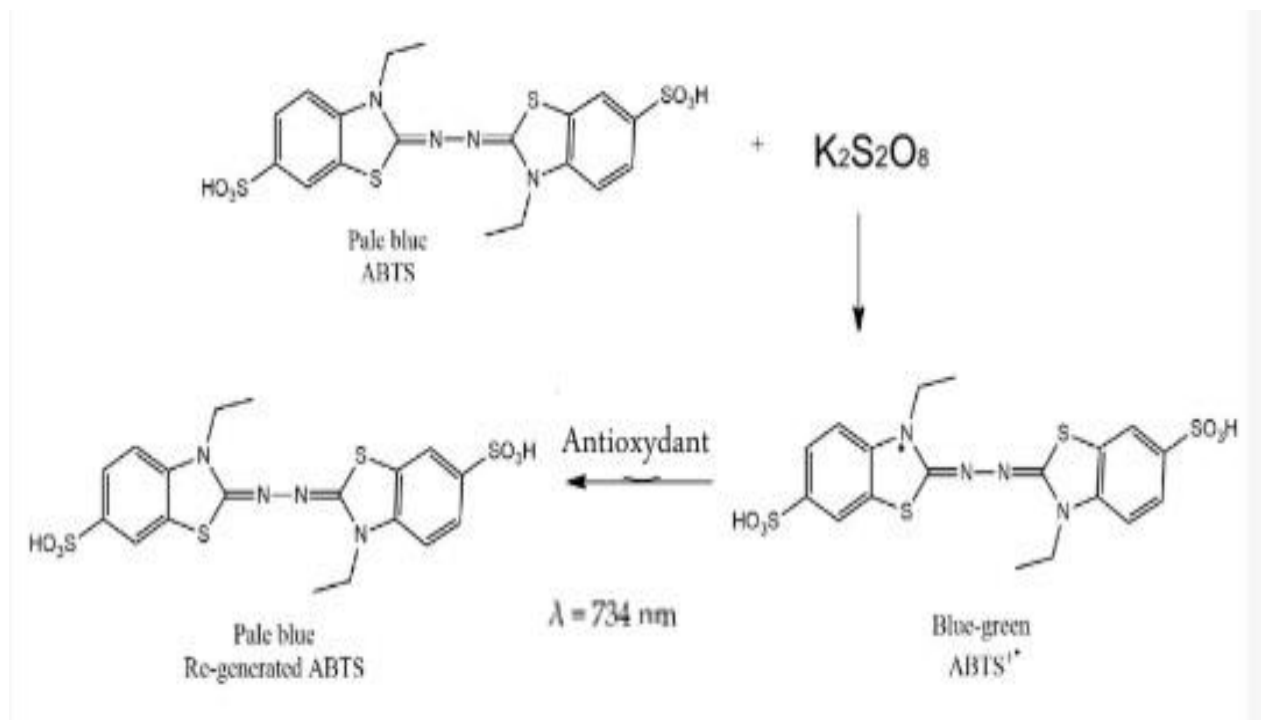


**Figure 106** : Lecteur de microplaque (Marque : Enspire Perkin Elmer, USA)

- Courtoisie de CRBT Constantine -

#### VI.4.2.2.2. Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS)

Le test au radical ABTS est le plus utilisé pour déterminer la concentration des radicaux libres. Il est déterminé par la méthode de Re et al. [319]. Le radical cationique  $ABTS^{•+}$  est généré par la réaction de la molécule stable d'ABTS avec un oxydant (Persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$ ) (Figure 107).



**Figure 107** : Structure et couleur de l'ABTS et de sa forme oxydée  $ABTS^{•+}$  [320].

La solution d'ABTS présente une coloration bleu turquoise (bleu-vert) lorsque le radical (ABTS<sup>•+</sup>) reste dans un état libre. Cependant, la forme réduite du radical décolore la solution lorsque le radical est piégé par les substances antioxydantes présentes dans le produit à tester ; l'intensité de la décoloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire [320].

En pratique, le radical ABTS<sup>•+</sup> est produit par ajout à 5 mL de la solution aqueuse d'ABTS (7mM), 5 mL d'une solution aqueuse de persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (2,45 mM), utilisée comme oxydant. Le mélange est mis à l'abri de la lumière pendant 16h, puis dilué par l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'une absorbance de  $0,700 \pm 0,02$  à 734nm. Dans une microplaque à 96 puits, 40  $\mu$ L de chaque dilution d'HE est ajoutée à 160 $\mu$ L de la solution d'ABTS<sup>•+</sup> ; le mélange est laissé pendant 10 mn. Le test est répété avec le contrôle négatif (160 $\mu$ L de solution ABTS<sup>•+</sup> + 40  $\mu$ L méthanol).

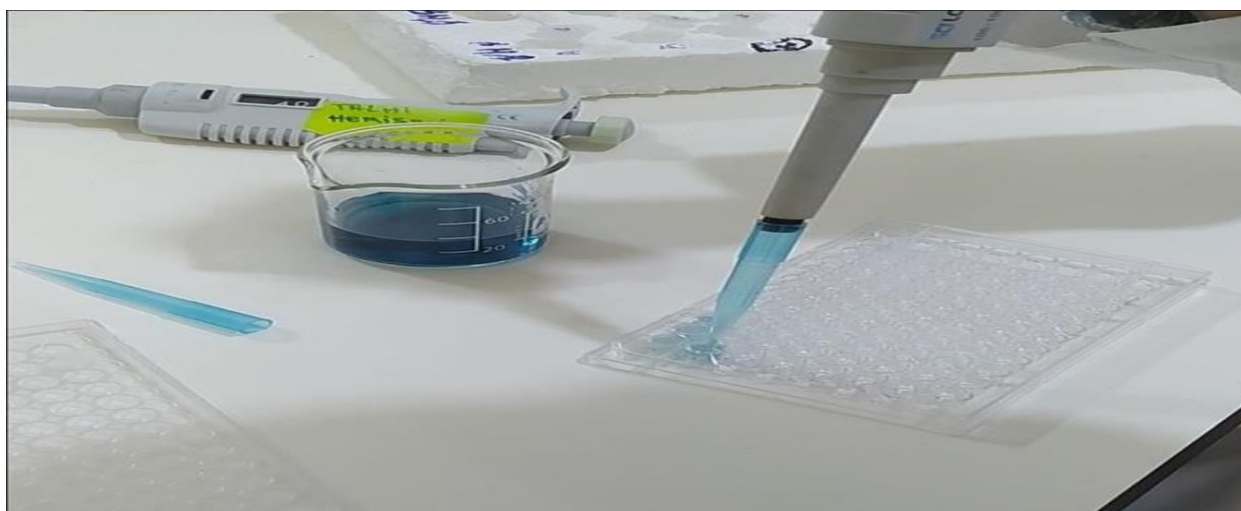
L'absorbance est lue sur un lecteur de microplaque à 734nm après 10 min de contact à l'obscurité. Le pourcentage de l'activité anti-ABTS<sup>•+</sup> est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition ABTS}^{\bullet+} (\%) = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

- A<sub>0</sub> : absorbance du contrôle négatif ;

- A : absorbance de l'échantillon ou standard.

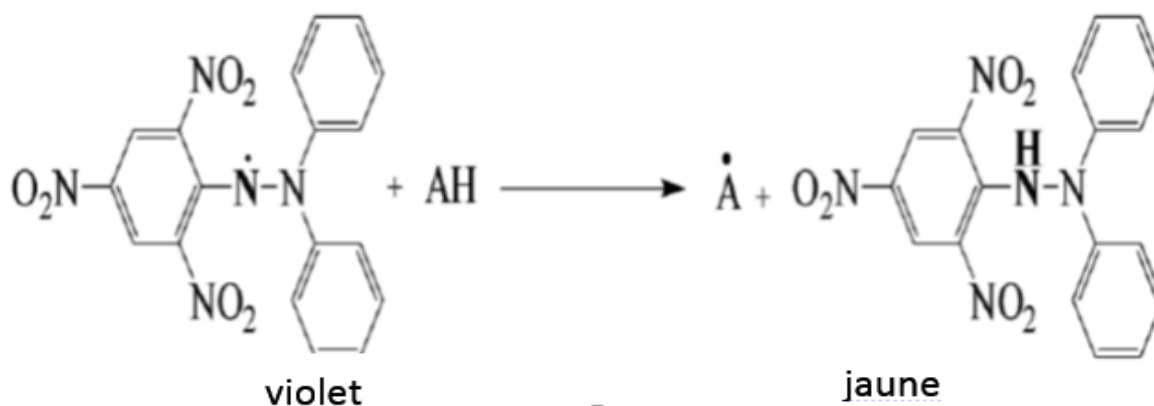
La concentration de l'échantillon nécessaire pour diminuer de 50% l'absorbance du radical coloré ABTS<sup>•+</sup> (CI<sub>50</sub>) a été estimée en traçant les pourcentages d'inhibition vs les concentrations d'huiles essentielles. Tous les tests ont été effectués en triplicata et les valeurs CI<sub>50</sub> ont été rapportées sous forme de moyennes  $\pm$  ET (n=3).



**Figure 108 : Pratique de l'activité ABTS - dépôt du radical libre sur microplaque -**

### VI.4.2.2.3. Test du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl- (DPPH<sup>•</sup>)

Le DPPH<sup>•</sup> est un radical stable d'une coloration violette, due à la présence d'un électron non apparié sur l'atome d'azote, possédant un maximum d'absorption dans le visible à 517 nm en solution alcoolique. L'absorbance de la solution du DPPH<sup>•</sup> diminue en donnant une couleur jaune, voire incolore, quand l'électron célibataire sur l'atome d'azote du DPPH<sup>•</sup> est réduit par un atome d'hydrogène provenant d'une substance antioxydante AH (Figure 109). La capacité antioxydante augmente d'autant plus que la substance réduit le DPPH<sup>•</sup>.



**Figure 109 : Réduction du radical DPPH en présence d'un antioxydant [322].**

L'activité anti-DPPH a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Blois [321]. En pratique, une solution du DPPH (0.1 mM) est préparée dans le méthanol et laissée en agitation durant 30min à l'abri de la lumière. Un volume de 40 µl de chaque dilution d'huile essentielle est additionné à 160 µl de la solution de DPPH. Le mélange est laissé réagir à l'obscurité et à température ambiante pendant 30min. L'absorbance est mesurée par un lecteur de microplaque à 517nm. Le test est répété pour le contrôle négatif (même condition sans ajout d'HE). Des antioxydants témoins sont également testés dans les mêmes conditions : Butylhydroxytoluene / BHT, Butylhydroxyanisole / BHA,  $\alpha$ -tocopherol/ Vitamine E.

L'activité anti-DPPH<sup>•</sup> est mesurée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous :

$$\text{Inhibition DPPH}^{\bullet} (\%) = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

-  $A_0$  : absorbance du contrôle négatif ;

-  $A$  : absorbance de l'échantillon ou standard.

La concentration de l'échantillon nécessaire pour diminuer de 50% l'absorbance du radical coloré ( $CI_{50}$ ) a été estimée en traçant les pourcentages d'inhibition vs les concentrations d'huiles

essentielles. Tous les tests ont été effectués en triplicata et les valeurs  $IC_{50}$  ont été rapportées sous forme de moyennes  $\pm$  ET ( $n=3$ ).

Pour normaliser les résultats du DPPH, l'indice d'activité antioxydante (IAA), proposé par Scherer et Godoy en 2009 peut être calculé comme suit :

$$IAA = [\text{Conc.de DPPH } (\mu\text{g.mL}^{-1}) / CI_{50} (\mu\text{g.mL}^{-1})]$$

Les huiles essentielles ont été classées comme présentant une faible activité antioxydante ( $AAI < 0,5$ ), modéré ( $0,5 < AAI < 1,0$ ), fort ( $1,0 < AAI < 2,0$ ) et très forte ( $IAA > 2,0$ ) [324].

#### VI.4.2.2.4. Test du radical cuivre II – néocuproïne (CUPRAC)

La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe cuivre (II)-néocuproïne, dénoté  $Nc-Cu^{2+}$ . En présence d'un agent antioxydant, le complexe  $Nc-Cu^{2+}$  de couleur bleu est réduit en produisant un complexe chromogène de  $Nc-Cu^{+}$  de couleur jaune-orangé (Figure 110), et cette réaction est quantifiée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm [323].

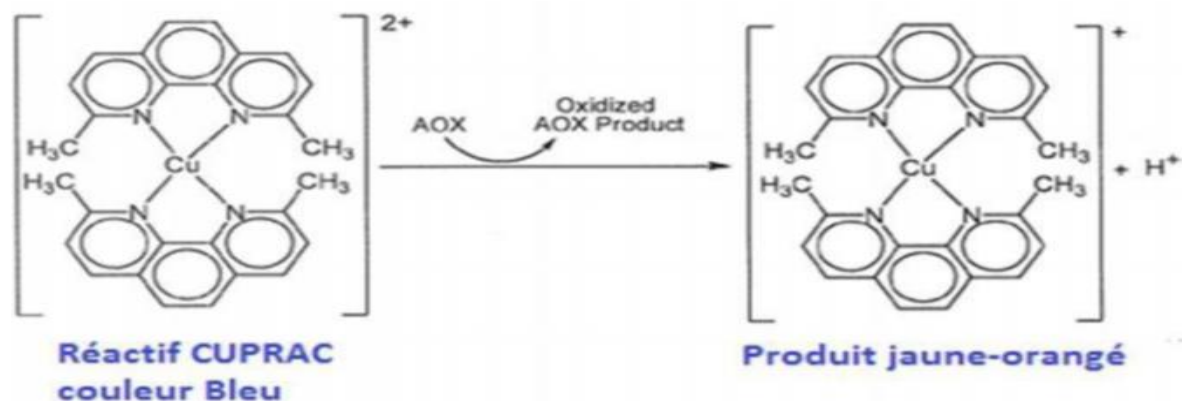


Figure 110 : Principe de la réaction CUPRAC [323].

Les solutions suivantes sont préparées comme suit :

- *Solution 1 (S1)* : 1,927g d'acétate d'ammonium ( $CH_3COONH_4$ ) dissous dans 25 ml d'eau ( $H_2O$ ), le pH est ajusté à 7,0 (solution tampon) ;
- *Solution 2 (S2)* : 0,042625g de chlorure de cuivre II ( $CuCl_2, 2H_2O$ ) dissous dans 25 ml d'eau ( $H_2O$ ) (solution  $Cu^{2+}$ ) ;
- *Solution 3 (S3)* : 0,039g de néocuproïne dissous dans 25 ml d'alcool méthylique (solution de néocuproïne).

Le test CUPRAC a été réalisé comme précédemment décrit [323, 325]. Pratiquement, un volume de 40 µl de chaque dilution d'huile essentielle est mélangé avec 60 µl de la solution tampon (S1) et 50 µl de la solution néocuproïne (S3), le tout déposé dans chaque puits de la microplaque. Un volume de 50 µL de la solution de Cu<sup>2+</sup> (S2) est ajouté au mélange par la suite. Le mélange réactionnel est incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 1 heure, puis la lecture de l'absorbance se fait par un lecteur de microplaque à la longueur d'onde de 450nm. Le test est répété pour le contrôle négatif (même condition sans ajout d'HE).

La capacité CUPRAC est exprimée par le pourcentage (%) d'inhibition obtenu par l'équation suivante :

$$\text{Capacité CUPRAC (\%)} = [100 \times (A_0 - A) / A_0]$$

- A<sub>0</sub> : absorbance du contrôle négatif ;

- A : absorbance de l'échantillon ou standard.

La concentration de l'échantillon nécessaire pour diminuer de 50% l'absorbance du radical coloré (CI<sub>50</sub>) a été estimée en traçant les pourcentages d'inhibition vs les concentrations d'huiles essentielles. Tous les tests ont été effectués en triplicata et les valeurs CI<sub>50</sub> ont été rapportées sous forme de moyennes ± ET (n=3).

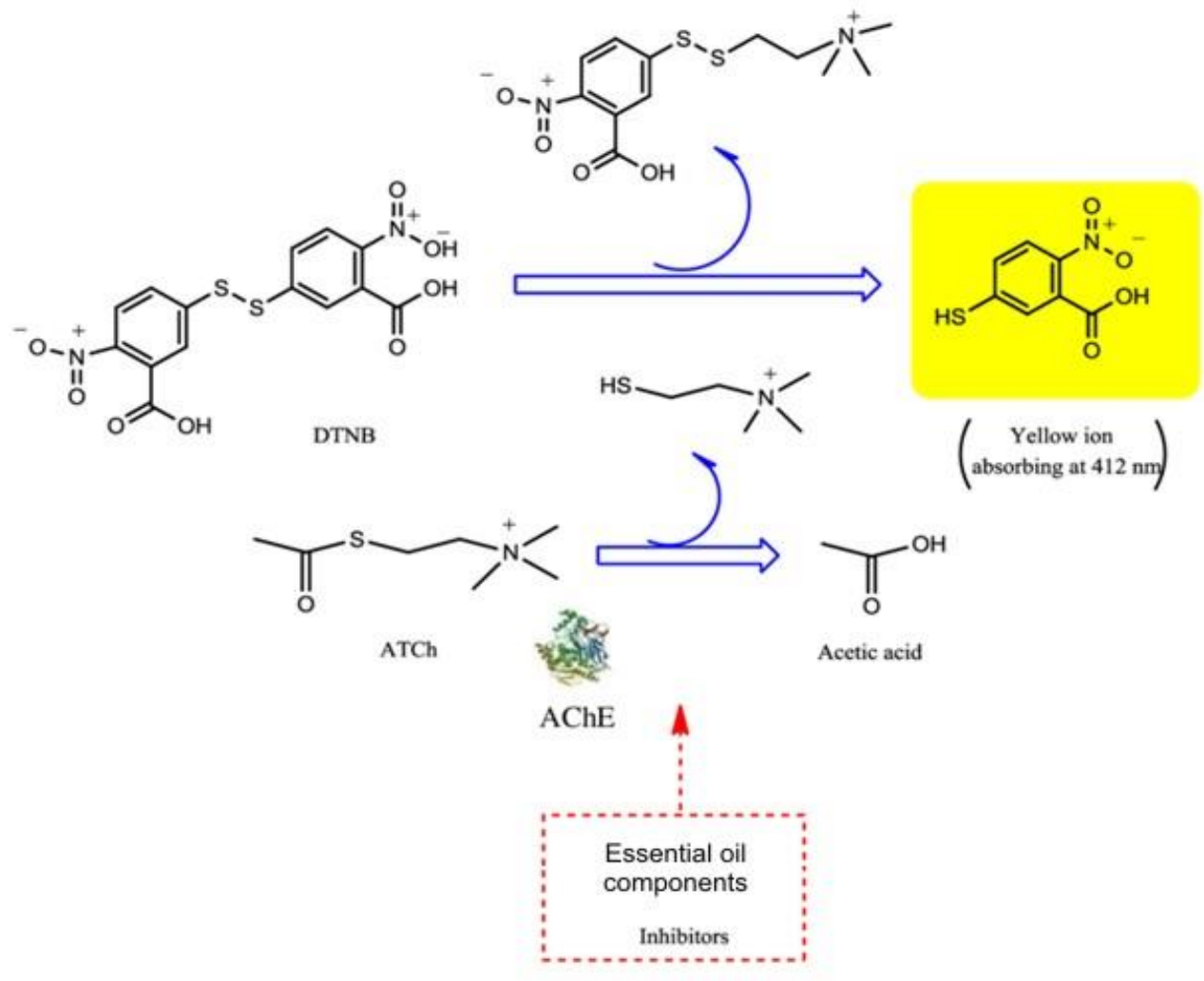
- *Analyse Statistique*

Les résultats des tests antioxydants effectués sont exprimés en moyenne ± SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI<sub>50</sub> (Concentration d'inhibition à 50%) et de A<sub>0,50</sub> (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la CI<sub>50</sub> et [Absorbance = f (concentrations)] pour la A<sub>0,50</sub>. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

### **V1.4.2.3. Evaluation de l'activité inhibitrice d'enzymes**

#### **VI.4.2.3.1. Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE)**

Le dosage de l'AChE a été effectué selon la méthode d'Ellman et al. (1961) [326]. Cette méthode consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ATCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine libérée agit avec l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) formant un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm.



**Figure 111 : Activité inhibitrice de l'AChE - Principe de la méthode d'Ellman -**

1) Préparation de la solution tampon

L'hydrogénophosphate de sodium ou phosphate disodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ ) est dissous dans de l'eau distillée pour constituer la solution V1 (0,1M), à raison de 8,890 g/500mL. Le dihydrogénophosphate de sodium ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ ) est lui aussi dissous dans de l'eau distillée pour constituer la solution V2 (0,1M), à raison de 1,56 g/100mL. Les solutions V1 et V2 sont mélangées et le pH est ajusté par ajout de NaOH ou HCL.

2) Préparation de la solution DTNB

L'acide 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) -16 mg-, et l'hydrogénocarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ) -7,5 mg-, sont dissous dans une solution tampon pour constituer un volume de 8mL.

3) Préparation de la solution de l'iodure de l'Acetylthiocholine (ACI)

L'ACI -16mg- est dissoute dans 4 mL d'eau et 4 mL de la solution tampon (pH 8.0).



4) Préparation de la solution AChE

L'AChE est dissoute à raison de 0,2 mg dans 4 mL de la solution tampon (pH 8.0) pour donner la solution AChE. Un aliquote (20 µL) est prélevé de la solution AChE et ajouté à 3 mL de la solution tampon (pH 8.0). L'absorbance à 412nm doit être située entre 0,4 et 0,5.

5) Mise en œuvre du protocole

Pratiquement, un volume de 150 µl de la solution tampon (pH 8.0) est additionné à 10 µL de chaque dilution d'HE et 20 µL de la solution AChE ( $5,32 \cdot 10^{-3}$  U). Le mélange est incubé à 25°C pendant 15 mn. A ce mélange, 10 µL de DTNB (0,5mM ; pH 8.0) et 10 µL d'acetylthiocholine iodide (0,71 mM) sont ajoutés.

La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm à T= 0 mn pour une première lecture, et toutes les 5 minutes pendant 15 mn. Le pourcentage d'inhibition d'AChE est déterminé par rapport au blanc (éthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule :

$$\text{Inhibition d'AChE (\%)} = \frac{E - S}{E} \times 100$$

E : activité de l'enzyme sans HE.

S : activité de l'enzyme avec HE.

Le test est répété en triplicata et comparé à l'effet de la galantamine.

**VI.4.2.3.2. Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE)**

Le protocole d'évaluation de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase est le même que celui effectué avec l'acétylcholinestérase en remplaçant l'AChE par la BChE, et le substrat ACI par le substrat BuCI (S-Butyrylthiocholine iodide).

**VI.4.2.3.3. Activité inhibitrice de la tyrosinase**

L'activité anti-tyrosinase est déterminée selon la méthode précédemment décrite par Ebru Deveci et *al.* 2018 [327]. Pratiquement, à 150 µl de la solution tampon est additionné 10 µl de chaque dilution d'HE avec 20 µl d'enzyme tyrosinase. Le tout est incubé durant 10 mn à 37 °C. Par la suite, 20 µl de L-DOPA est additionné suivie d'une autre incubation durant 10 mn à 37 °C. La lecture se fait à 475nm. Le test est répété en triplicata et comparé à l'effet de l'acide kojique.

#### *VI.4.2.3.4. Activité inhibitrice de l'uréase*

L'activité anti-uréase est déterminée selon la méthode décrite par Muhammad Taha et *al.* 2018 [328]. Pratiquement, un volume de 10  $\mu\text{L}$  de chaque dilution d'HE est additionné à 50  $\mu\text{L}$  de l'enzyme Uréase (1 mg d'enzyme dans 1 ml de solution tampon, PH=8,2) et 50  $\mu\text{L}$  du substrat Urée (0,2553 g d'urée dans 25 ml de solution tampon, PH=8,2). Ensuite 45  $\mu\text{L}$  du réactif phénol (2 g de phénol dans 25 ml d' $\text{H}_2\text{O}$  + 25 mg  $\text{Na}_2 [\text{Fe} (\text{CN})_5\text{NO}] 2\text{H}_2\text{O}$  dans 25 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) et 70  $\mu\text{L}$  du réactif alcalin (0,7125 g  $\text{NaOH}$  dans 25 ml  $\text{H}_2\text{O}$  + 1,175 ml  $\text{NaOCl}$  dans 25 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) sont additionnés. Après 50 mn d'attente, la lecture se fait à 630 nm.

Le test est répété en triplicata et comparé à l'effet de l'acide kojique.

- *Analyse Statistique*

Les résultats ont été exprimés par la moyenne et son écart type (ET). L'analyse des résultats a été effectuée à l'aide de Microsoft Office Excel 2013.

## VI.5. ESSAI DE TOXICITE

### ❖ Principe de la réaction

Le test de létalité des crevettes de saumure (*Brine shrimp lethality test*) est un essai général de toxicité très sensible à divers composés toxiques. Il consiste à mettre en contact un nombre donné de larves avec une quantité connue de substance toxique et d'observer leur mortalité au bout de 24 h. La cytotoxicité a été évaluée en termes de  $CL_{50}$  (concentration létale).

Ce test a été réalisé selon la méthode de Meyer, B.N (1982) en utilisant les larves d'*Artemia salina* [329].

### ❖ Instruments utilisés

- Incubateur (Panasonic)
- Balance analytique (Kern® ALJ220-4)
- Pompe à air pour Aquarium (Champion, Atman® model no : MIR-154-PE).
- pH-mètre de paillasse (METTLER TOLEDO)
- Micropipettes (Eppendorff)

### ❖ Produits et réactifs utilisés

- Oeufs d'*Artemia salina*.
- Diméthyl sulfoxyde (DMSO) (Sigma aldrich)
- Sels marins
- Solution de NaOH 1N (Sigma aldrich)

### ❖ Incubation des œufs et éclosion des larves de crevettes d'*Artemia salina*.

Les larves de crevettes ont été obtenues à partir d'œufs d'*Artemia salina*. Pour cela, 2g de cystes d'*A. salina* sont mis à éclore dans un bécher d'un litre d'eau de mer (20 g/L sel marin, pH 8-9) à la température du laboratoire sous fort bullage. Au bout de 30 heures, le bullage est stoppé pour récolter les nauplii. Une source lumineuse est dirigée vers le bas du bécher. Par phototropisme, les larves se séparent des cystes non éclos et des débris d'œufs (Figure 114). Il suffit alors de les recueillir à l'aide d'une micropipette pour procéder à la réalisation des tests de toxicité.

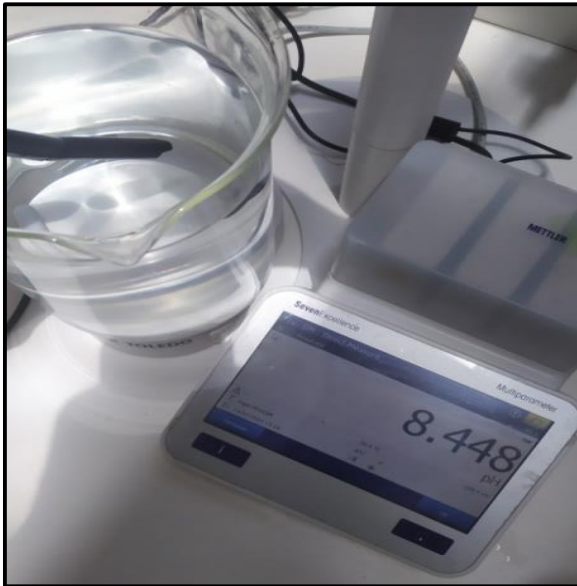


Figure 112 : Mesure de pH du milieu



Figure 113 : Incubateur (Panasonic)



Figure 114 : Larves d'*Artemia salina*.

#### ❖ Préparation des dilutions d'HEs

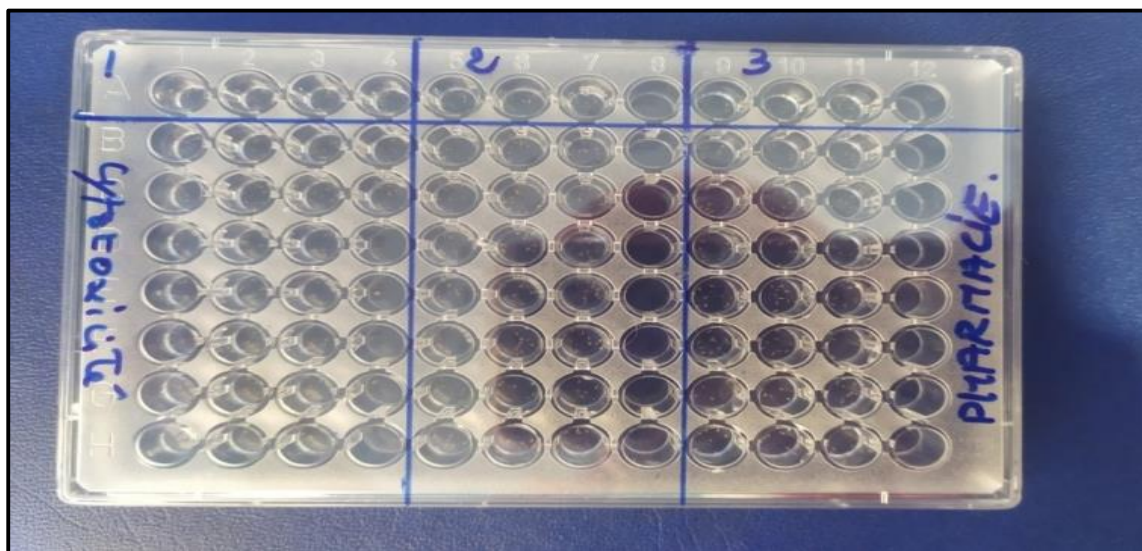
La toxicité de l'HE a été testée à des dilutions de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 et 1/128 d'une solution mère (4 mg HE/mL, 0,05% DMSO v/v).

Pour cette étape, 4mg d'huiles essentielles sont dissoutes dans 1 ml de DMSO à 0.05% (préparé en mélangeant 50µl de DMSO et 950 µl de l'eau déjà préparé).

Les dilutions sont réalisées par l'eau utilisée comme milieu d'incubation des larves.

❖ **Mise en œuvre du test**

Dix (10) nauplies d'*Artemia* prélevés à l'aide d'une micropipette ont été introduites dans 100µL d'eau de mer dans une microplaque à 96 puits contenant 20µL de chaque concentration d'HE. Le volume est ensuite ajusté dans chaque puits à 200 µL avec de l'eau de mer. Le nombre de survivants est compté après 24 h. Trois répétitions ont été utilisées pour chaque concentration. Le contrôle à blanc est réalisé dans les mêmes conditions avec de l'eau de mer additionnée de DMSO 0,05%.



**Figure 115 : Essai de cytotoxicité réalisé sur microplaque**

❖ **Lecture des résultats du test de mortalité**

Après 24 h d'exposition, le nombre de nauplies survivantes est compté dans chaque puits et le pourcentage de mortalité (%) est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Mortalité (\%)} = \frac{(N_{\text{cont}} - N_{\text{test}})}{N_{\text{cont}}} \times 100$$

$N_{\text{test}}$  = Nombre survivants de nauplies dans le test.

$N_{\text{cont}}$  = Nombre survivants de nauplies dans le contrôle.

La concentration létale pour 50% de mortalité ( $CL_{50}$ ) a été déterminée par l'analyse de régression Probit de Finney [329]. La létalité des extraits sur les crevettes de saumure a été classée comme précédemment rapporté [330, 331] :  $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  était « non toxique »,  $CL_{50} = 500-1000 \mu\text{g/mL}$  était « faiblement toxique »,  $CL_{50} = 100-500 \mu\text{g/mL}$  était « modérément toxique » et  $CL_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$  était « fortement toxique ».

## VI.6. TESTS « *IN SILICO* »

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, dans lequel les essais cliniques succèdent habituellement au développement préclinique. L'identification et la mise au point d'une molécule possédant une activité biologique recherchée se fait lors du développement préclinique ; elles nécessitent, entre autres, l'investigation de ses propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, et se basent de plus en plus sur des approches informatisées *in silico*, et dont les résultats se retrouvent *in vitro* et *in vivo*. L'un de ces outils informatiques est la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire. Celui-ci consiste à prédire et à reproduire les interactions protéine-ligand ; ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales [332, 333].

### ➤ La modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire regroupe l'ensemble des techniques de visualisation des molécules, de calcul de leurs conformations et de simulation de leur comportement. Les outils de modélisation moléculaire sont particulièrement performants pour l'étude au niveau atomique d'interactions entre deux entités moléculaires. Ce type d'étude fait appel le plus souvent aux techniques de "docking".

La modélisation moléculaire trouve de nos jours d'importantes applications, parmi lesquelles figurent principalement deux applications classiques :

- Le développement de nouveaux médicaments : le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteurs (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement de la maladie, que ce soit une protéine d'un organisme pathogène ou du propre organisme humain. en réduisant considérablement le nombre d'essais de screening nécessaires pour aboutir à un nouveau médicament [334, 335].
- La rationalisation de l'énergie enzymatique : le fondement est le même que celui du développement de nouveaux médicaments, en permettant d'étudier les interactions entre les substrats (ligand) et les enzymes (récepteurs) ; la modélisation moléculaire apporte une meilleure compréhension de la sélectivité enzymatique au niveau moléculaire. Ce qui peut rendre possible, par la suite, le développement d'approches prédictives pour la sélectivité des enzymes natives vis-à-vis d'un substrat ou d'une classe de substrats donnée, ou encore, d'identifier des acides aminés dont la mutation ponctuelle permettait de modifier la sélectivité ou la spécificité enzymatique [336, 337].

De ce fait ; cette section du volet pratique vise à étudier « *in silico* » les activités anti-inflammatoire et antibactérienne des deux constituants majoritaires quantitativement de chaque huile essentielle étudiée selon les données fournies par les résultats de l'analyse GC-SM.

- *Aloysia triphylla* : D-Limonène (23,69%) ; E-citral (11,53%).
- *Thymus capitatus* : Thymol (57,56%) ; Carvacrol (10,52%).
- *Origanum vulgare* : Thymol (38,96%) ;  $\gamma$  Terpinène (25,44%).
- *Eucalyptus globulus* : 1,8-Cinéol (78,05%) ;  $\alpha$  Pinène (10,45%).

## VI.6.1. ETUDE IN SILICO (ADMET, DOCKING MOLECULAIRE) DE L'ACTIVITE ANTIINFLAMMATOIRE ET ANTIBACTERIENNE

### VI.6.1.1. Matériels

#### VI.6.1.1.1. Microordinateur

Nous avons utilisé un micro-ordinateur puissant ayant une mémoire vive de 8GO, processeur Intel (R) Core (TM) i5. On signale que tous les programmes utilisés dans cette étude sont installés sous le système d'exploitation Windows 10 ; 64bits.

#### VI.6.1.1.2. Programmes

##### VI.6.1.1.2.1. AVOGADRO

Ce programme nous a permis d'assurer l'optimisation de la géométrie des ligands en 3D.

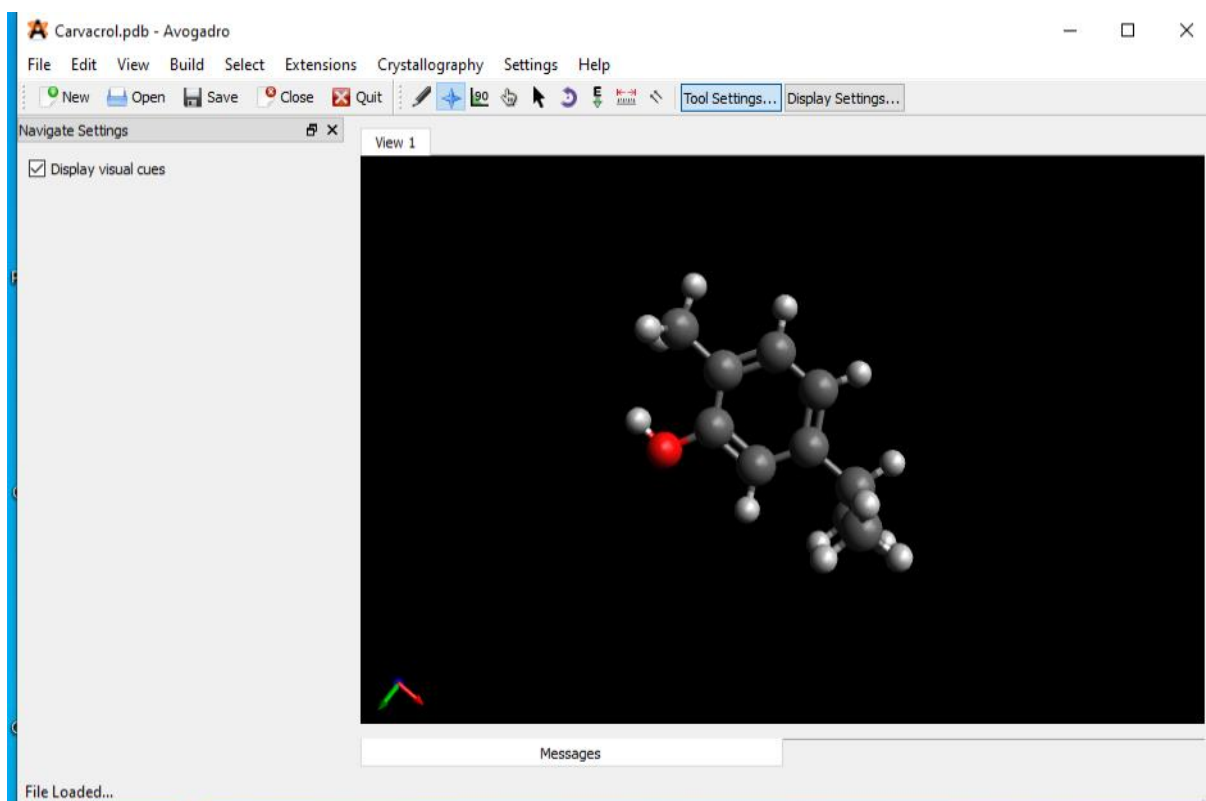
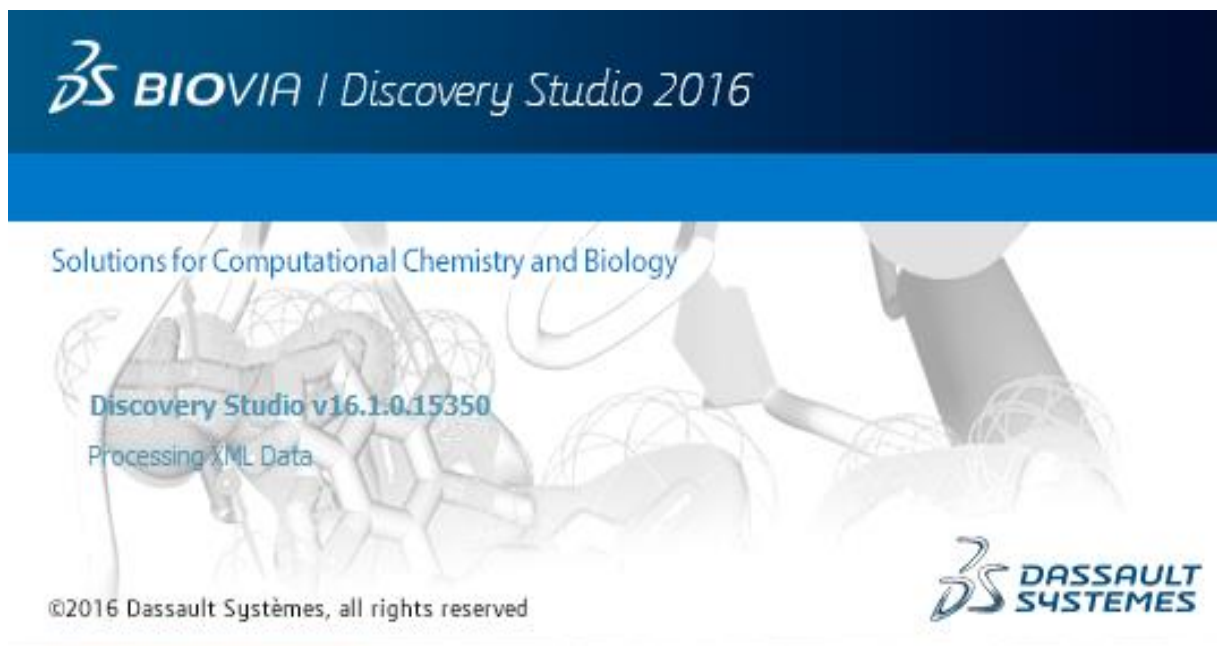


Figure 116 : Logiciel Avogadro



*VI.6.1.1.2.2. Discovery studio*

Ce logiciel nous a permis de préparer et visualiser aussi bien la protéine que les ligands afin d'étudier les interactions effectuées entre la protéine et le ligand.



**Figure 117 : Logiciel Discovery studio**

*VI.6.1.1.2.3. Autodock tools*

Le récepteur et les ligands utilisés dans ce travail étant en général sous le format PDB, sont convertis au format pdbqt par le programme AutoDock Tools.

Aussi il s'agit d'interface qui nous a permis de lancer le docking moléculaire par autodock4 [338].



**Figure 118 : Logiciel Autodocktools**



### ***VI.6.1.1.3. Les banques des données et serveurs***

#### ***VI.6.1.1.3.1. Protéine data bank « PDB »***

Cette banque de données représente une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques ; protéines essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN [339].

#### ***VI.6.1.1.3.2. Pubchem***

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (le National Center for Biotechnology Information). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux de notre ligand [340].

#### ***VI.6.1.1.3.3. SWISS ADME***

C'est un serveur web qui nous a permis de calculer les propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques de nos ligands. On peut consulter ce serveur via le lien: <http://www.swissadme.ch/> [341].

#### ***VI.6.1.1.3.4. PRE-ADMET***

PreADMET est un serveur en ligne permettant de prédire les données ADMET. Dans le présent travail, ce serveur est utilisé pour prédire plusieurs critères régissant la toxicité potentielle de nos composés par deux tests : Test d'Ames et test de cancérogénicité chez les rongeurs. On peut consulter ce serveur via le lien : <https://preadmet.bmdrc.kr>.

#### ***VI.6.1.1.3.5. CASTp (Computed Atlas of Surface Topography of proteins)***

Ce serveur permet de déterminer le site actif des différentes protéines utilisées dans notre étude, et qui ne possèdent pas un ligand au site actif. On peut consulter ce serveur via le lien : <http://sts.bioe.uic.edu/castp/index.html?2r7g>.

## **VI.6.1.2. Méthodes**

### ***VI.6.1.2.1. Etude ADMET***

Chaque molécule future médicament doit se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses

propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité.

➤ *Propriétés physico chimiques*

Dans cette perspective, nous avons utilisé le serveur *SuissADME* afin de simuler certaines propriétés physicochimiques des ligands en utilisant la Règle de Lipinski et Veber. Ce serveur sert également à calculer la solubilité dans l'eau et l'accessibilité à la synthèse chimique.

En 1997 Lipinski et al ont proposé « la règle de 5 » également appelée « règle de LIPINSKI » permettant de déterminer si un composé chimique possède des caractéristiques médicamenteuses précises. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants :

- Possède une masse moléculaire inférieure à 500 daltons.
- Un coefficient de partition (log P) ou une lipophilie entre -2 et 5.
- Ne possède pas plus de 5 donneurs de ponts hydrogène (OH et NH).
- Ne possède pas plus de 10 accepteurs de ponts hydrogène (O et N).
- Le nombre de fonctions rotatives (flexibles et linéaires) inférieur à 15 [342].

➤ *Propriétés pharmacocinétiques*

Le serveur précédent nous a également servi à calculer les propriétés pharmacocinétiques de nos similaires, en l'occurrence la pénétration de la barrière hémato-encéphalique, l'absorption gastro-intestinale (GI), la perméabilité cellulaire et l'inhibition des différents cytochromes P450.

➤ *Tests de toxicité*

La toxicité de nos inhibiteurs a été évaluée à l'aide du serveur *PreADMET*. Ce dernier nous a permis de simuler, à partir de la structure 3D d'un inhibiteur, sa toxicité selon plusieurs tests à savoir : le test d'Ames (*évaluer le pouvoir mutagène*), le test d'inhibition de la croissance des algues (*Algal Growth Inhibition*), le test d'immobilisation par *Daphnia magna* Straus, (*évaluer la toxicité potentielle aigüe*), le test de toxicité aigüe sur les poissons (*Oryzias latipes et Pimephales promelas*), le test de cancérogénicité sur les souris et les rats ainsi que le test de l'inhibition du gène ether-a-go-go humain (*hERG*).

#### **VI.6.1.2.2. Tests de fiabilité du protocole de docking réalisé par Auto Dock 4.2 (Redocking)**

Le redocking consiste à tenter de repositionner un ligand dans son site de liaison à partir du complexe L-R correspondant, duquel le composé a été préalablement extrait. En d'autres termes,

un site apte à lier le ligand que l'on souhaite docker est préparé à partir du complexe L-R d'intérêt, d'où l'appellation "redocking".

✓ **RMSD : L'écart quadratique moyen ou (root mean square deviation)**

Un moyen largement utilisé pour comparer les structures de biomolécules ou de corps solides, consiste à translater et à faire pivoter une structure par rapport à l'autre pour minimiser la déviation quadratique moyenne (RMSD).

✓ **Analyse visuelle**

Ayant pour but la comparaison visuelle de la superposition des ligands séparés de ces récepteurs téléchargés de la PDB avec ceux qui résultent du selfdock.

### ***VI.6.1.2.3. Docking moléculaire***

- La Cyclo-oxygénase 2 (**PDB ID : 5f1a**) a été choisie comme cible pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.
- Quatre protéines, cibles d'espèces bactériennes, de *Pseudomonas aerogenosa* (**PDB ID : 6m1s**), *Escherichia coli* (**PDB ID : 5l3j**), *Staphylococcus aureus* (**PDB ID : 3vsl**), et *Bacillus subtilis* (**PDB ID : 3zih**) ont été sélectionnées afin d'évaluer l'activité antibactérienne des différents composés choisis.

Le docking protéine-ligand est utilisé pour vérifier la structure, la position et l'orientation d'une petite molécule quand elle interagit avec les macromolécules comme les protéines. Son but est de prédire et de classer les structures résultant de l'association entre un ligand donné et une protéine cible d'une structure 3D connue.

#### **VI.6.1.2.3.1. Préparation de la protéine**

Nous avons choisie pour l'appréciation de l'activité anti-inflammatoire la cyclooxygénase 2 comme cible biologique (**5F1A : 2.38 Å**). Avant son utilisation, le complexe 5fla est séparé de son ligand de référence l'acide salicylique (AS).

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne ; des protéines bactériennes de gram négatif et positif ont été choisie : *Escherichia coli* (**ADN gyrase**) : **5L3J (2.83 Å)**, *Pseudomonas aerogenosa* (**ADN gyrase**) : **6m1s (2.25 Å)**, *Staphylococcus aureus* (**PFP**) **3vsl (2.04 Å)**, *Bacillus subtilis* (**SepF, C-terminal domain**) : **3zih (2 Å)** à partir de la banque de donnée PDB (protein data bank).

En effet, nous avons choisi des structures déterminées par diffraction en rayon X, avec des bonnes résolutions. Les complexes ont été téléchargés au format Pdb (Figure 119).

-Avant de son utilisation par Auto Dock 4.2 ; les 5 complexes sont séparés de leur ligand de références s'il existe afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre, cette étape est réalisée par le logiciel Discovery Studio. Elle a compris l'élimination des molécules d'eau, des ligands de Co-cristallisation et des chaînes non favorables pour avoir un modèle simplifié de la protéine (Figures 119, 120).

-Les récepteurs sont ensuite préparés par réparation des atomes manquants et en définissant les charges partielles de leurs atomes par le programme *AutoDock Tools* qui attribue des charges de type "Kollman".

Il est aussi nécessaire de rajouter à ces récepteurs les hydrogènes dits polaires. Les fichiers des protéines ainsi préparés sont convertis par *AutoDock Tools* au format pdbqt (format propre à Autodock).



Figure 119 : L'enzyme 5f1a non simplifié



Figure 120 : L'enzyme 5f1a simplifié



Figure 121 : La protéines 6m1s non simplifié



Figure 122 : La protéine 5l3j non simplifié



Figure 123 : La protéine 3vsl non simplifié

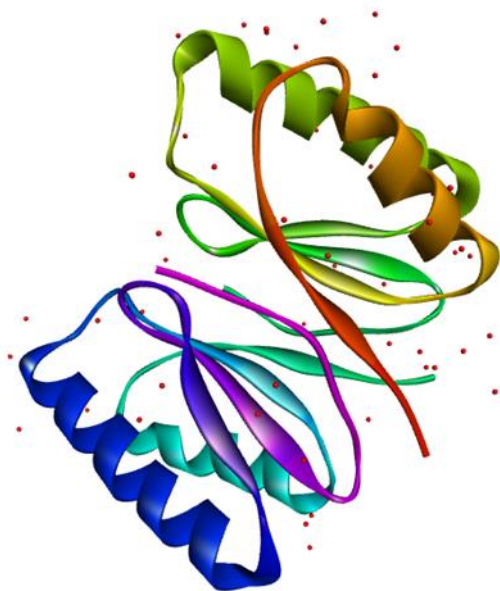


Figure 124 : La protéine 3zih non simplifié



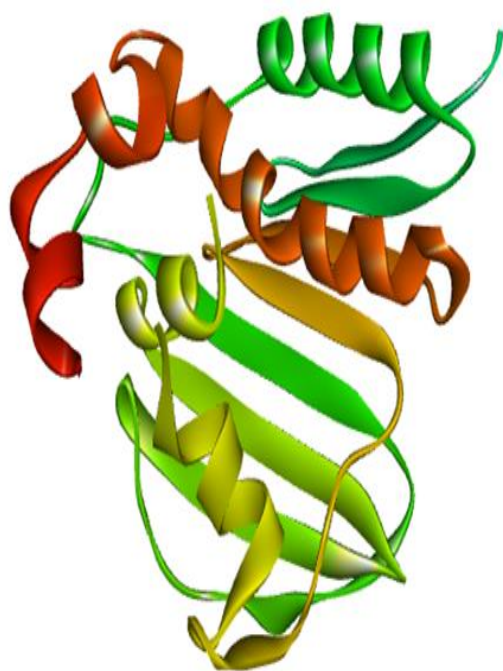


Figure 125 : La proteines 6m1s simplifié



Figure 126 : La proteine 5l3j simplifié

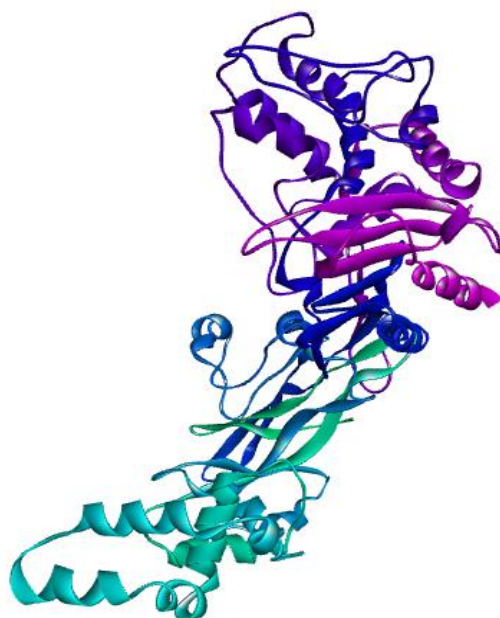


Figure 127 : La proteine 3vsl simplifié

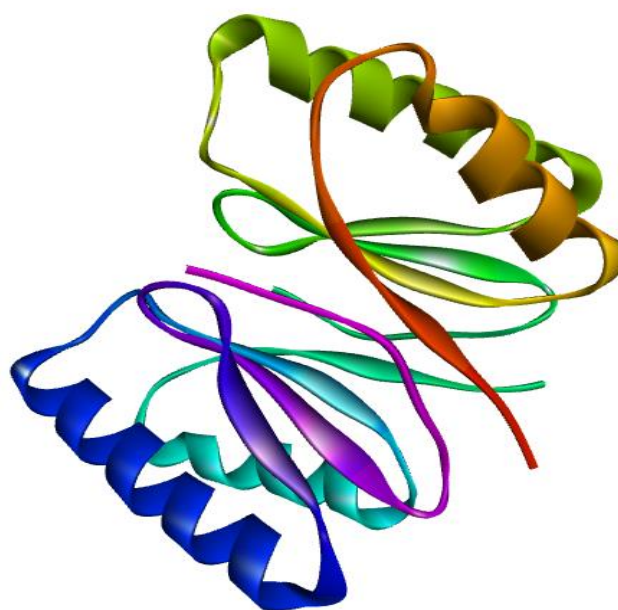


Figure 128 : La proteine 3zih simplifié

#### VI.6.1.2.3.2. Préparation des ligands

Sept ligands à étudier sont utilisés à partir d'extraits d'HEs de plantes étudiées (*Aloysia triphylla* : **D-Limonène** + **E-Citral** ; *Thymus capitatus* : **Thymol** + **Carvacrol** ; *Origanum vulgare* : **Thymol** + **gamma Terpinène** ; *Eucalyptus globulus* : **1,8-Cinéol** + **alpha Pinène**) ; ainsi que deux antibiotiques de référence (**Méticilline** et **l'acide nalidixique**) ; ces ligands ont été téléchargés depuis le site pubchem sous forme 3d sdf. Ensuite, à l'aide d'*avogadro*, nous avons optimisé leurs géométries par minimisation d'énergie avec mécanique moléculaire. Enfin, les molécules ainsi obtenues sont enregistrées au format pdb.

#### VI.6.1.2.4. Etapes d'amarrage moléculaire

Nous avons réalisé cette étape avec le programme AutoDock 4.2, nécessitant la présence de la protéine et les ligands sous format pdbqt. En ce qui concerne le site actif, nous avons fait recours au serveur *CASTp* (*Computed Atlas of Surface Topography of proteins*) et le logiciel *Discovery Studio* qui nous a permis de déterminer le site actif.

Les centres de la boîte d'amarrage ont été déterminés par les coordonnées suivantes :

**6m1s (X = 22,036. Y = 1,331. Z = 41,041). (Espace de 0,375. 40 ×40× 40).**

**5lj3 (X = -11,954. Y = 20,488. Z = 23,401). (Espace de 0,375. 40 ×40× 40).**

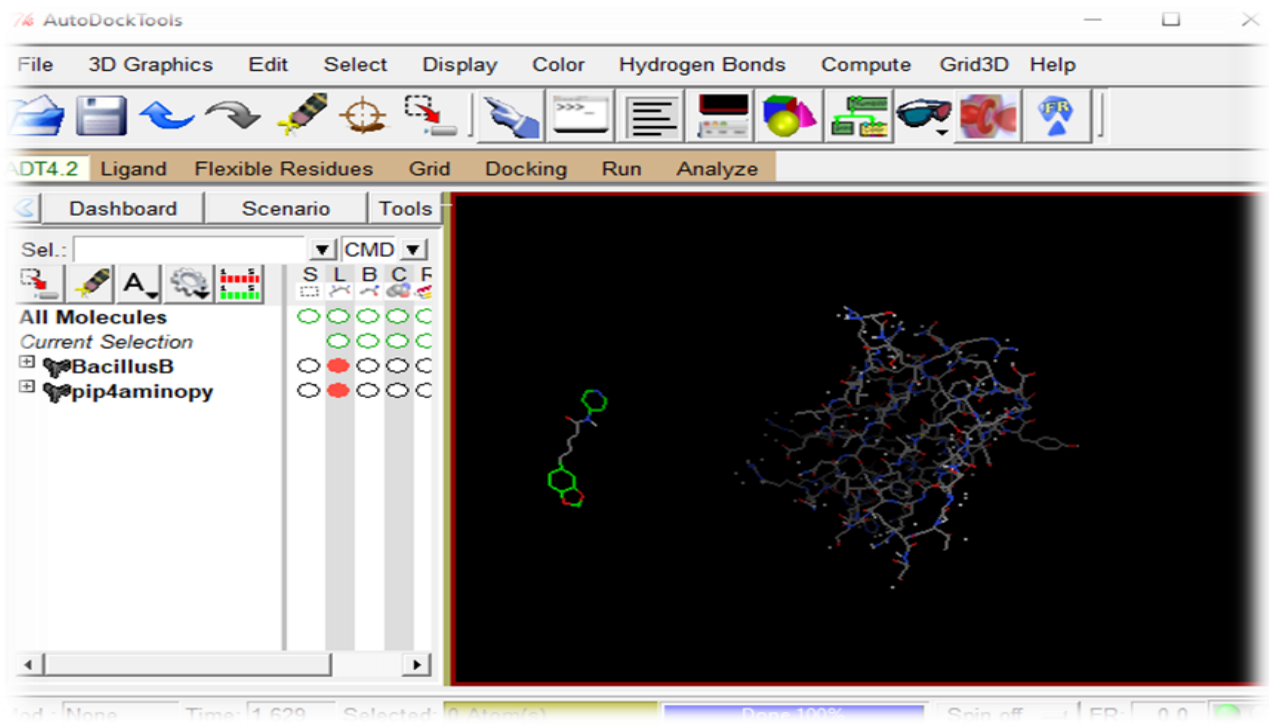
**3vsl (X = 50,821. Y = -31,114. Z = 25,054). (Espace de 0,503. 40 ×40× 40).**

**3zih (X = -18,394. Y = -23,322. Z = 11,863). (Espace de 0,375. 50 ×70× 90).**

Le docking moléculaire permet de générer les différentes conformations de chaque ligand étudié au sein du site actif, classées par leur score d'affinité décroissant.

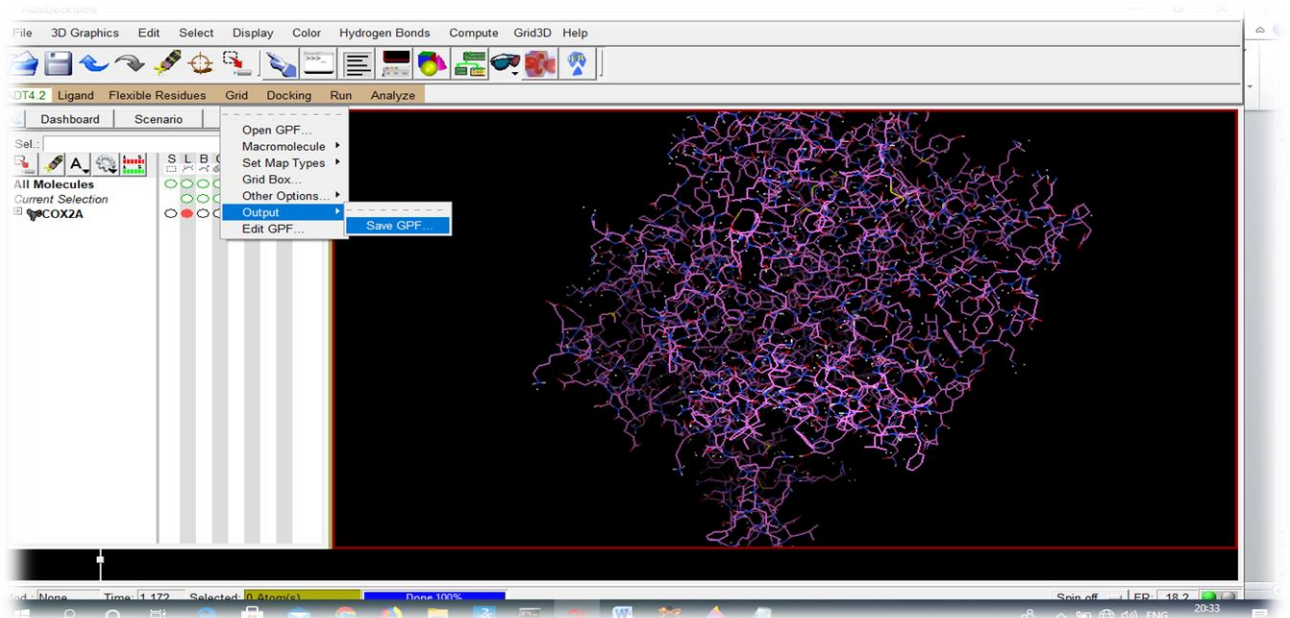
L'amarrage moléculaire se déroule comme suit :

- La première étape consiste à importer le ligand et le récepteur dans l'espace de travail de l'autodock tools (étape de préparation) (Figure 129).



**Figure 129 : Importation de la protéine et le ligand dans l'espace de travail**

- La seconde étape consiste à préparer les paramètres de la boîte de docking (grid box) et enregistrer les paramètres en gpf file (Figure 130).

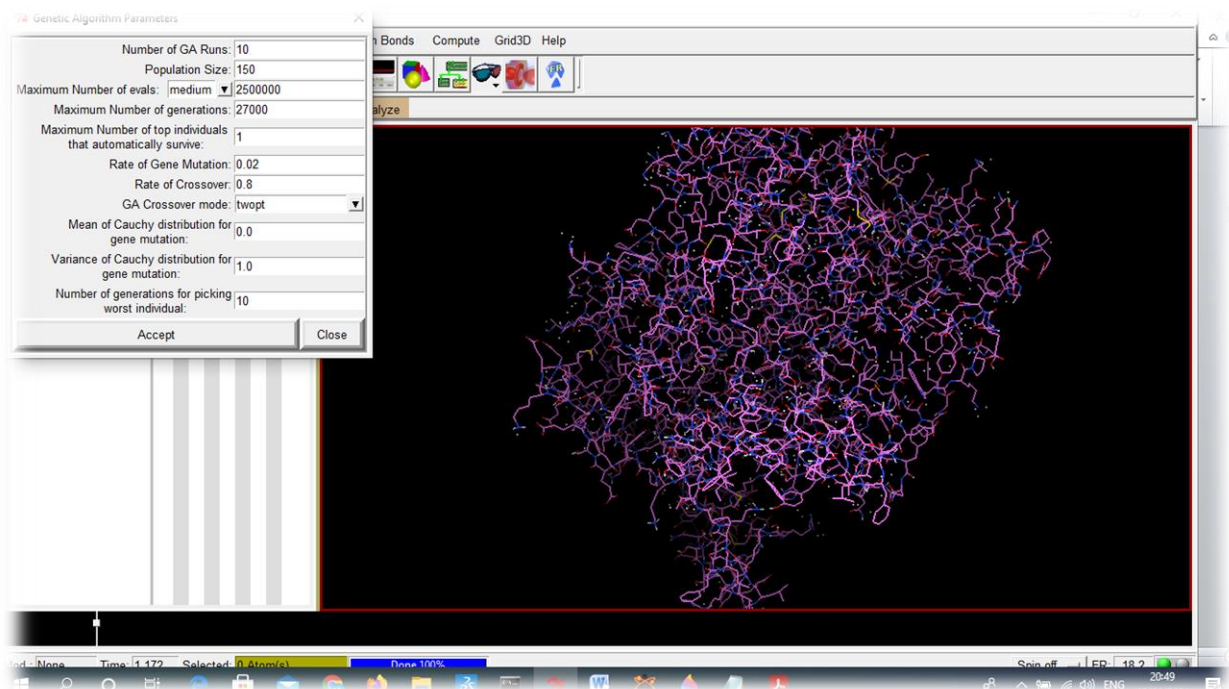


**Figure 130 : Préparation des paramètres de la boîte de docking**

- La troisième consiste à préparer les paramètres de docking moléculaire (dpf file). L'algorithme génétique Lamarckian (LGA) (Morris et *al.*, 1998) a été utilisé avec la taille de la population de 150 individus, le nombre maximal de générations et d'évaluations énergétiques de 27.000 et 2,5 millions

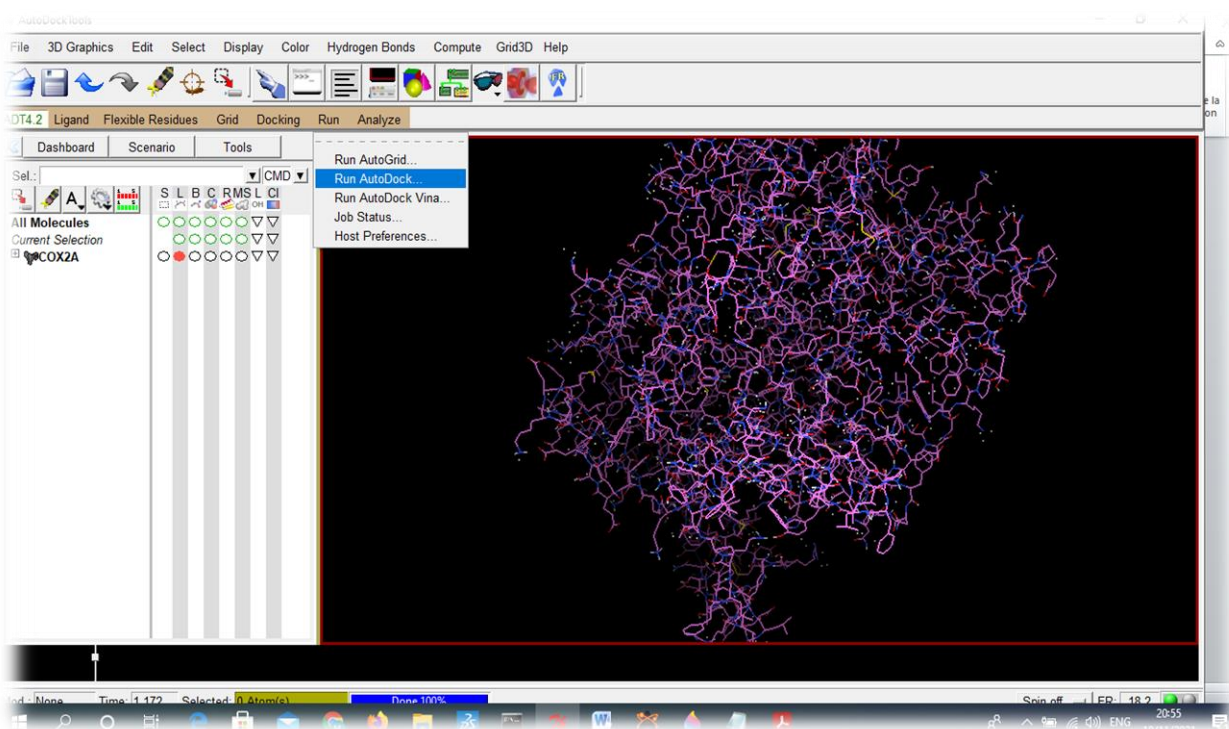


respectivement. Selon l'énergie libre ( $\Delta G$ ) et la constante d'inhibition ( $K_i$ ) pour chaque ligand. Seule la meilleure pose (celle avec la plus faible énergie de liaison) a été considérée pour chaque ligand (Figure 131).



**Figure 131 : Détermination des paramètres de docking moléculaire**

- La quatrième étape consiste à exécuter les paramètres du grid box (gpf) et de docking moléculaire (dpf) par les exécutable autogrid et autodock successivement (Figure 132).



**Figure 132 : Exécution des paramètres du grid box et de docking moléculaire**

➤ **Analyse des résultats**

Pour chaque ligand, nous avons choisi la conformation la plus favorable qui correspond à la plus faible énergie d'interaction vis-à-vis le site actif de l'enzyme. Cette étape d'analyse et de visualisation des interactions protéine-ligands concerne seulement les ligands qui ont des énergies d'interaction plus faibles par rapport à celle de l'acide salicylique (activité anti-inflammatoire), et celles de la Mécilline et l'acide nalidixique (activité antibactérienne).

**-Visualisation**

La visualisation moléculaire est un aspect clé de l'analyse et de la communication des études de modélisation. Nous avons utilisé Discovery Studio pour visualiser les conformations et les interactions hydrophobes et hydrogènes que peut établir chaque inhibiteur avec le site actif de l'enzyme. En plus, ce programme confère la présentation 2d des complexes afin de mieux comprendre les modes de liaisons des inhibiteurs dans le site actif.

# **CHAPITRE VII**

## ***RESULTATS & DISCUSSIONS***

Les résultats de nos études de caractérisation Pharmacognosique sur les quatre taxons étudiés, à savoir, la verveine odorante, le thym capité (thym à têtes), l'origan et l'eucalyptus sont exposés comme suit :

## VII.1. ESSAIS BOTANIQUES

### VII.1.1. ANALYSE MACROSCOPIQUE (ORGANOLEPTIQUE ET MORPHOLOGIQUE)

Cette analyse est effectuée sur deux volets :

- Le premier organoleptique qui concerne le contrôle des caractères suivants : couleur, saveur et odeur ;
- Le second est morphologique.

#### VII.1.1.1. Tests organoleptiques

Les caractères organoleptiques de feuilles des quatre plantes étudiées sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 44).

**Tableau 44 : Caractères organoleptiques des quatre drogues étudiées**

	Couleur	Saveur	Odeur
<i>Aloysia triphylla</i>	Verte	Agréable, citronnée, un peu amère	Rafrâchissante, citronnée, surtout sur le frais ou au froissement
<i>Thymus capitatus</i>	Face supérieure est verte foncée ; la face inférieure est verte grisâtre	Saveur aromatique persistante chaude et un peu âcre	Très aromatique, caractéristique de thymol, âcre et épicé
<i>Origanum vulgare</i>	Verte foncée	Aromatique, légèrement amère et astringente	Aromatique et épicée
<i>Eucalyptus globulus L. bicostata</i>	Verte sombre	Aromatique, légèrement amère, astringente, d'abord chaude puis donnant une sensation de fraîcheur	Fortement aromatique et balsamique, voire camphrée, surtout lorsque la drogue est froissée

## VII.1.1.2. Test morphologique

Les caractères morphologiques de feuilles des quatre plantes étudiées sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 45).

Tableau 45 : Caractères morphologiques des quatre drogues étudiées

Drogues	Caractères morphologiques	Drogues sous loupe binoculaire
Feuilles d' <i>Aloysia triphylla</i>	Sont étroitement elliptiques à lancéolées (7-10 cm), de couleur verte, courtement pétiolées, rudes au toucher, une marge entière et une nervure centrale très proéminente à la face inférieure.	
Feuilles de <i>Thymus capitatus</i>	Sont elliptiques lancéolées (environ de 5 à 10 mm), étroites de couleur verte à verte grisâtre, ciliées et ponctuées à la base, une nervure médiane marquée.	
Feuilles d' <i>Origanum vulgare</i>	Sont de forme ovoïdes se terminant en pointe (environ de 20 à 30 mm), de couleur vertes foncées, poilues, pétiolées (environ 4mm).	
Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus.L bicostata</i>	Sont falciformes et assez épaisses, de couleur vertes sombre, avec un pétiole arrondi.	

## VII.1.2. ANALYSE MICROSCOPIQUE

VII.1.2.1. Verveine odorante « *Aloysia triphylla* »➤ *Description de la coupe transversale de la feuille*

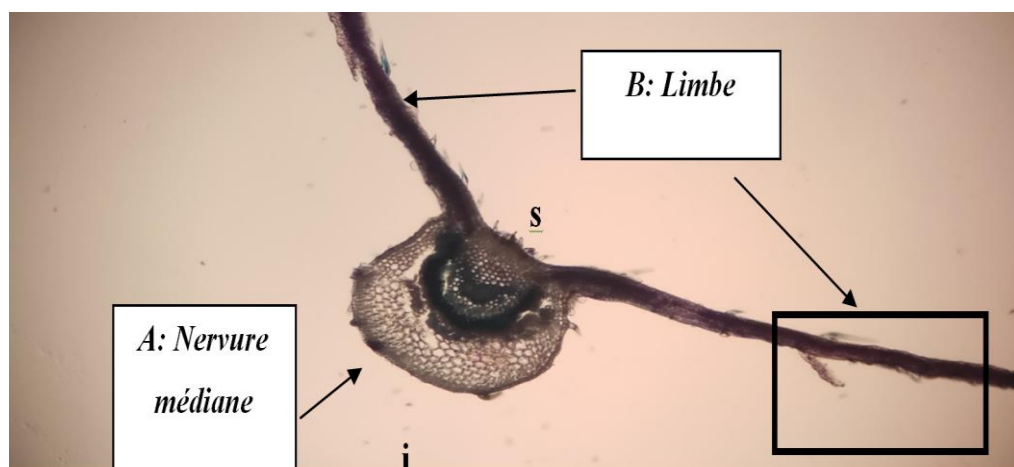
La feuille à symétrie bilatérale ; présente deux sections distinctes, un limbe et une nervure médiane (Figure 133). De l'extérieur vers l'intérieur on note les structures anatomiques suivantes.

\* **Le limbe** : Présent les éléments histologiques suivants (Figure 135) :

- ✓ L'épiderme supérieur n'est pas stratifié avec une cuticule fine, lisse et sans stomates ;
- ✓ Un parenchyme palissadique formé de deux assises de cellules allongées à paroi cellulosique mince, vers la face supérieure ;
- ✓ Un parenchyme lacuneux situé à côté de l'épiderme inférieur, agencé de manière lâche, avec de nombreux espaces intercellulaires ;
- ✓ Deux types de trichomes pubéruleux et glandulaires ;
- ✓ L'épiderme inférieur présente de nombreux stomates en colonnes.

\* **La nervure médiane** : Très saillante à la face inférieure et légèrement pointue à la face supérieure (Figure 134).

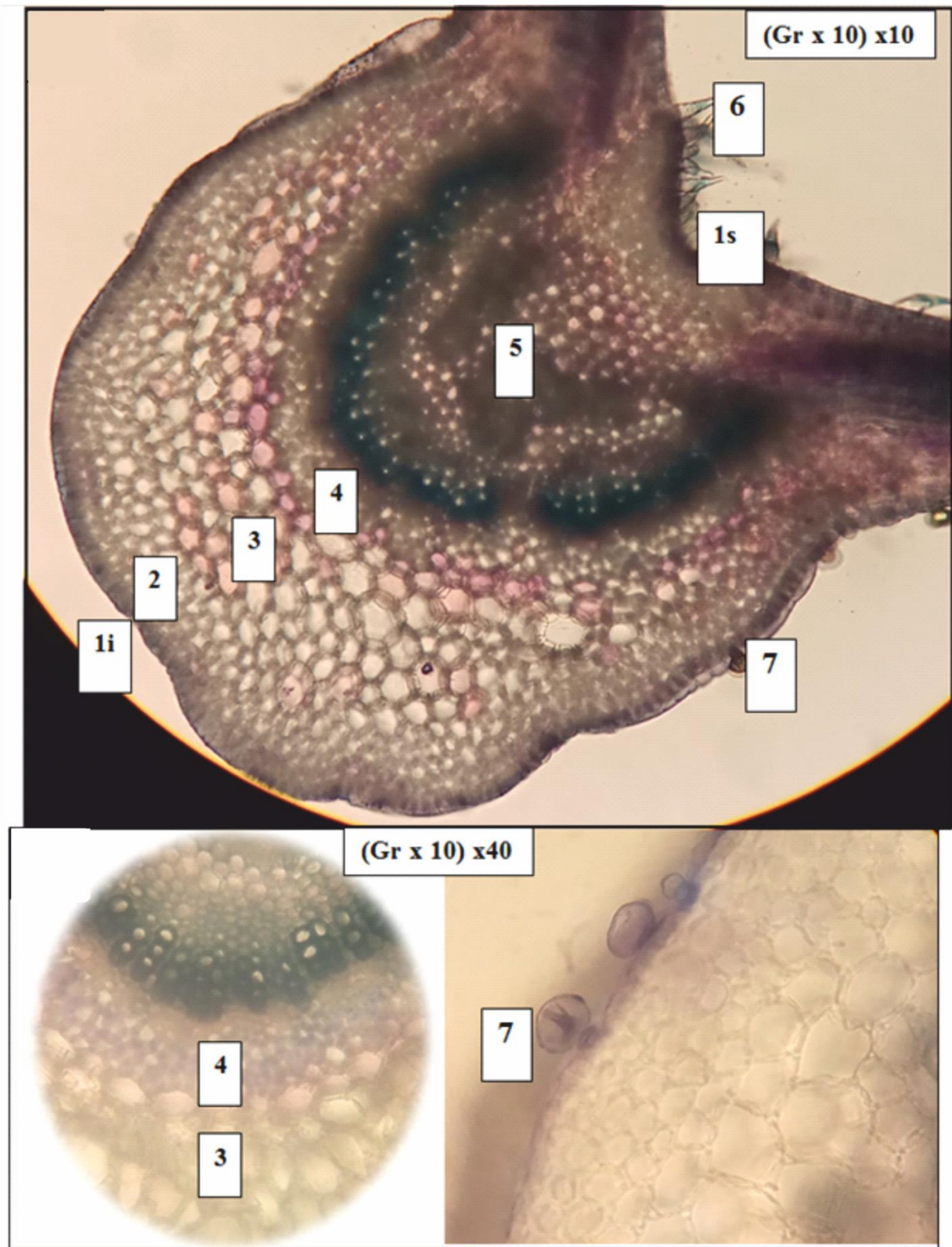
- ✓ Deux épidermes supérieur et inférieur semblables à ceux du limbe ;
- ✓ Un collenchyme sous épidermique sur les deux faces, et il est formé de cellules à paroi cellulosique épaisse ;
- ✓ L'appareil conducteur est représenté par un faisceau libéro-ligneux en arc (bois vers la face supérieure et liber vers la face inférieure) entouré par un péricycle sclérenchymateux discontinu et un parenchyme cortical formé de cellules polygonales arrondies à paroi fine.



*s* : Face supérieure ; *i* : Face inférieure

**Figure 133 : Coupe transversale de la feuille d'*Aloysia triphylla* vue au microscope optique (Gr x 4) x4**



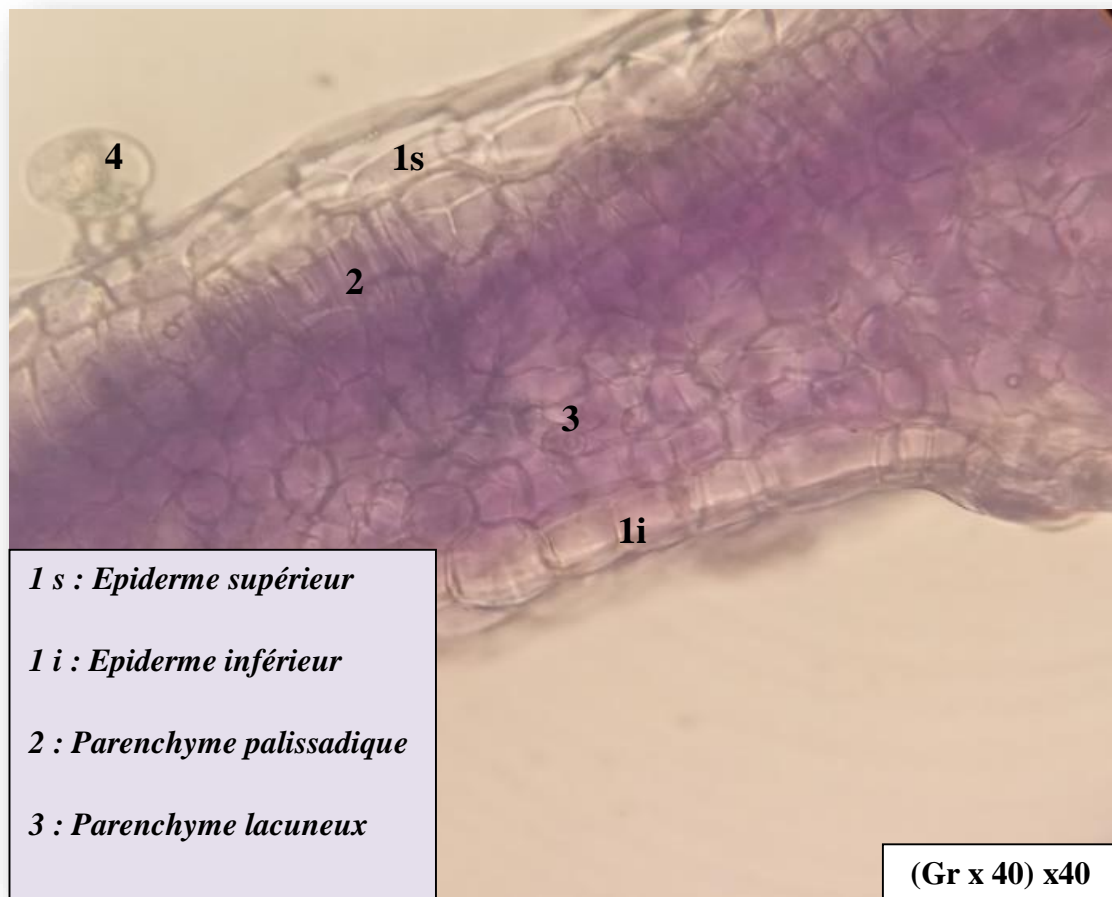


1i : Epiderme inférieure,  
1s : Epiderme supérieure +  
Cuticule fine  
2 : Collenchyme

3 : Parenchyme cortical  
4 : Sclérenchyme  
5 : Faisceau libéro-ligneux

6 : Poil tecteur  
7 : Poil sécréteur

Figure 134 : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille d'*Aloysia triphylla* observée au microscope optique



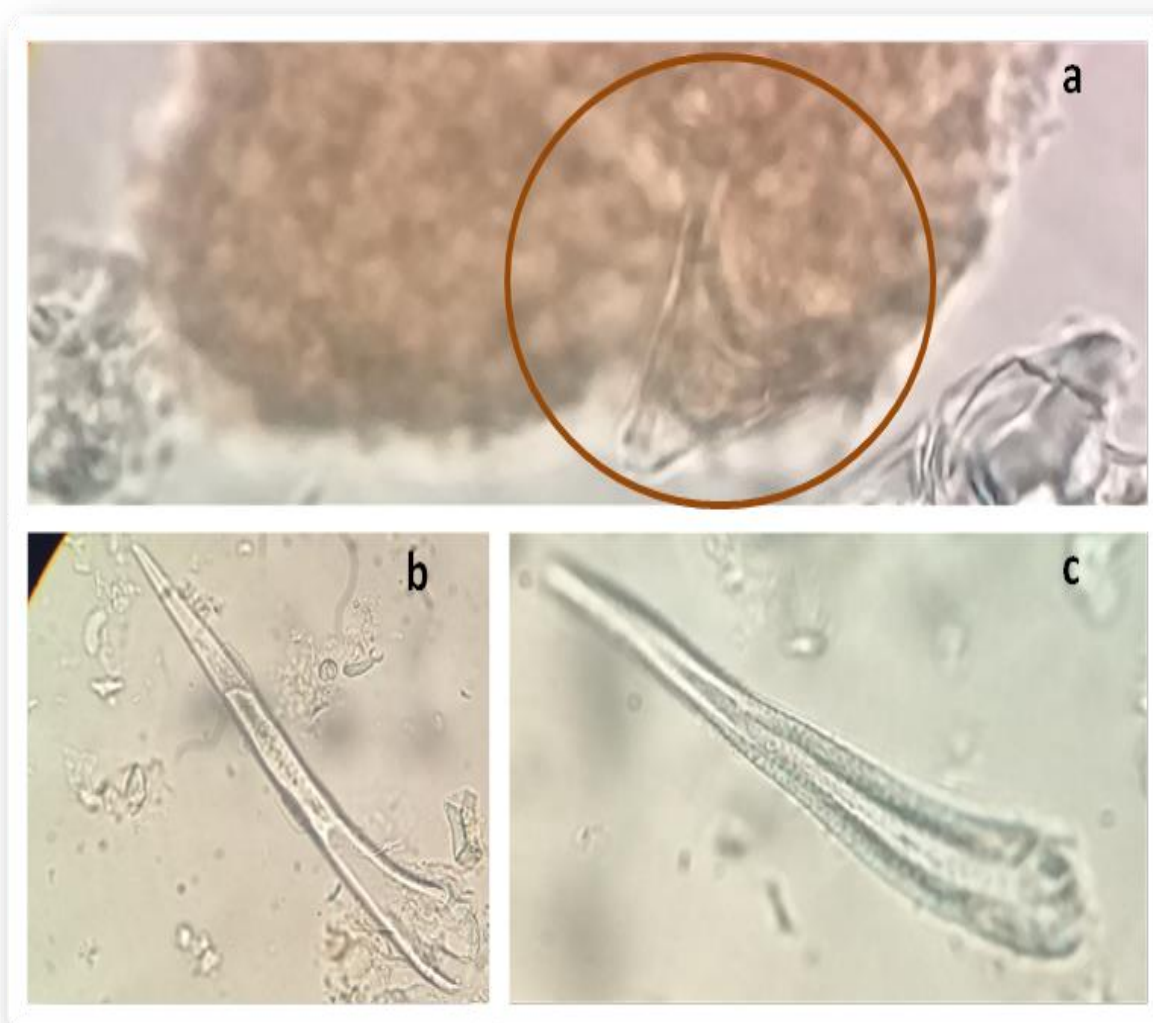
**Figure 135 : Coupe transversale du limbe de la feuille d'*Aloysia triphylla* observée au microscope optique (Gr x 40) x40**

➤ *Description de la poudre végétale des feuilles*

La poudre est de couleur verte claire, d'odeur aromatique caractéristique rappelant celle du citron. On observe au microscope optique les éléments suivants :

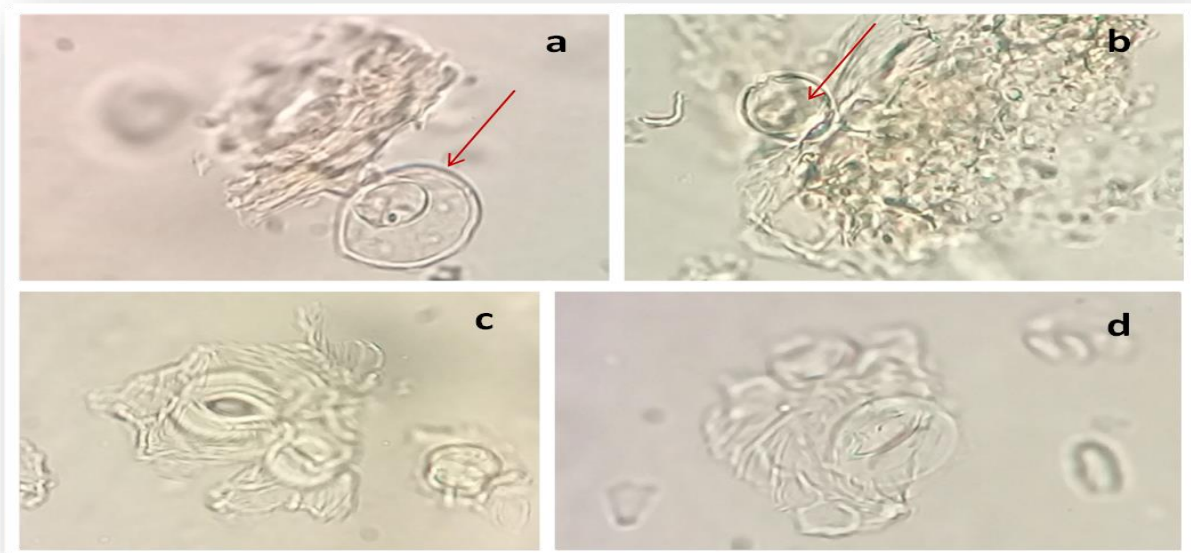
- ✓ Fragments de l'épiderme supérieur du limbe ; vue de face, composés de cellules polygonales ; de nombreux poils cystolithiques courts, unicellulaires, à parois épaisses, dont la base est entourée de cellules disposées en rosette et on note une absence de stomates (Figure 136 a) ;
- ✓ Poils tecteurs (Figure 136 b et c) ;
- ✓ Nombreux poils sécréteurs, sessiles, à tête globuleuse (Figure 137 a et b) ;
- ✓ Fragments de l'épiderme inférieur du limbe composés de cellules plus irrégulières, aux contours plus ou moins sinueux, de nombreux stomates anomocytiques et une cuticule striée (Figure 137 c et d) ;
- ✓ Nombreux fragments des parenchymes du mésophylle avec vaisseaux lignifiés (Figure 138 a) ;
- ✓ Fragments d'épiderme supérieur et de parenchyme palissadique (Figure 138 b).





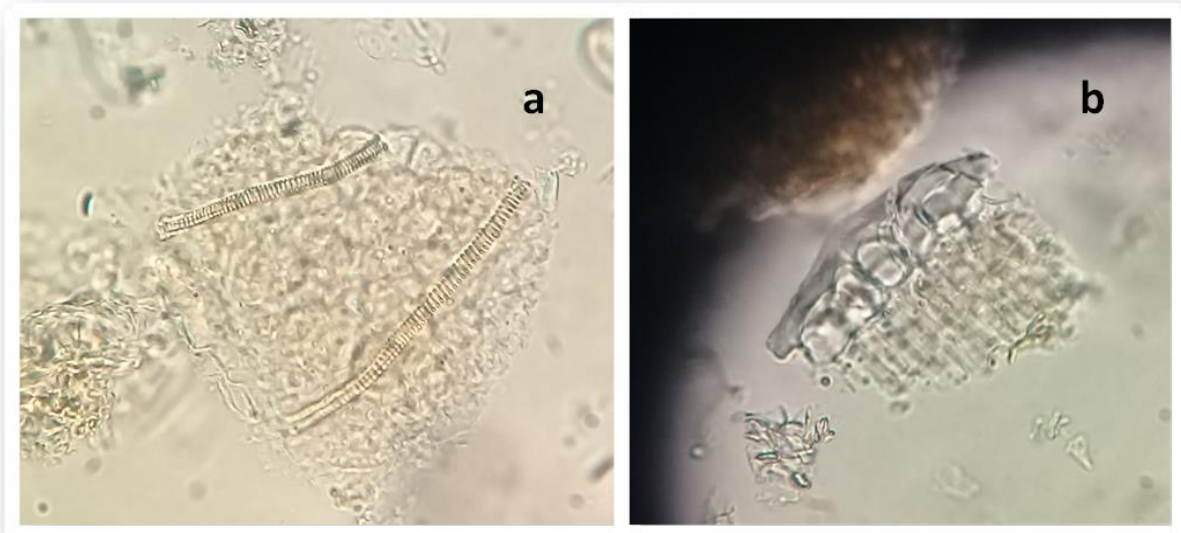
**a.** Poil cystolithique ; **b-c.** Poils tecteurs

**Figure 136 : Poils non sécréteurs de la poudre de feuilles d'*Aloysia triphylla* observés au microscope optique (G x 40) x 40**



**a-b.** Poils sécréteurs, subsessiles, à tête globuleuse ; **c-d.** Cuticule striée et stomates anomocytiques (épiderme inférieur vu de face).

**Figure 137 :** Poils sécréteurs et stomates anomocytiques de la poudre de feuilles d'*Aloysia triphylla* observés au microscope optique (G x 40) x 40



**a.** Fragments des parenchymes du mésophylle avec vaisseaux lignifiés ; **b.** Fragment d'épiderme supérieur et parenchyme palissadique de limbe vu en section transversale.

**Figure 138 :** Autres éléments de la poudre de feuilles d'*Aloysia triphylla* observés au microscope optique (G x 10) x 40

### VII.1.2.2. Thym à têtes « *Thymus capitatus* »

#### ➤ Description de la coupe transversale de la feuille

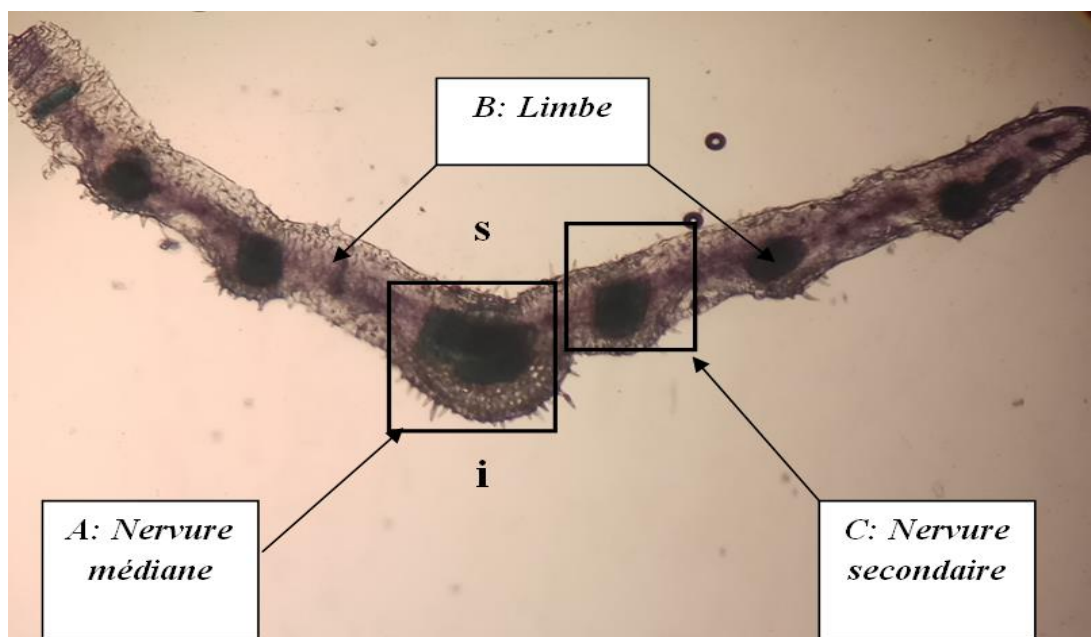
L'examen microscopique de la coupe transversale des feuilles a révélé la présence de plusieurs structures anatomiques disposées de l'extérieur à l'intérieur comme suit (Figures 140, 141).

#### \* Le limbe : (Figure 141)

- ✓ Des épidermes supérieurs et inférieurs comprennent des cellules unisériées carrées et rectangulaires. Les murs extérieurs sont plus épais que les murs intérieurs et latéraux. Les deux épidermes sont recouverts d'une épaisse cuticule ondulée ;
- ✓ Un limbe bifacial avec deux assises de tissu palissadique et plusieurs assises de tissu lacuneux ;
- ✓ Il y a des poils glandulaires et non glandulaires denses sur les surfaces des deux épidermes : Les trichomes non glandulaires (1-5) cellules ; ce type de poils est généralement situé sur la face inférieure de la feuille. Il existe deux types de poils glandulaires : multicellulaire et unicellulaire à tête et pied.

#### \*La nervure centrale : (Figures 139, 140)

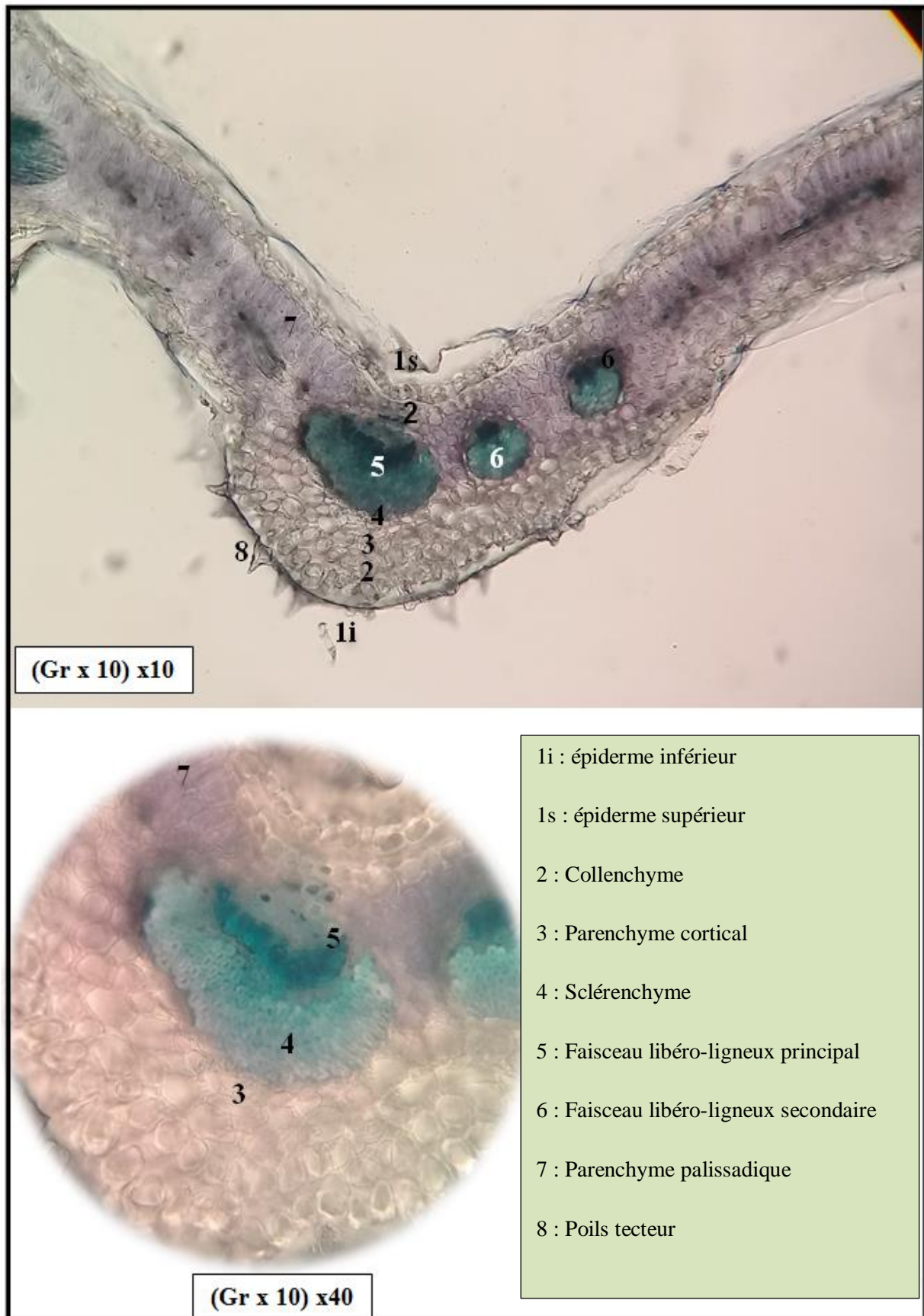
- ✓ La nervure centrale est mieux développée que les nervures latérales. Le faisceau vasculaire principal est entouré de sclérenchyme avec un collenchyme sous épidermique.



s : face supérieure

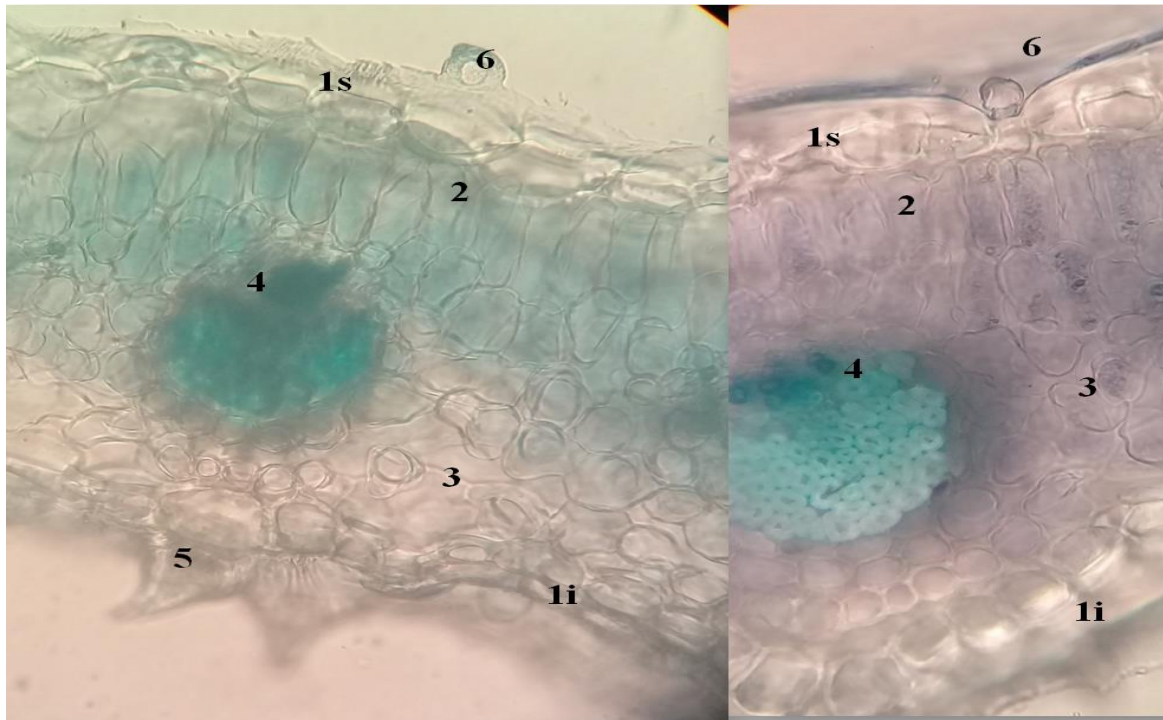
i : face inférieure

**Figure 139 : Coupe transversale de la feuille de *Thymus capitatus* observée au microscope optique (Gr x 4) x4**



**Figure 140 : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille de *Thymus capitatus* observée au microscope optique**





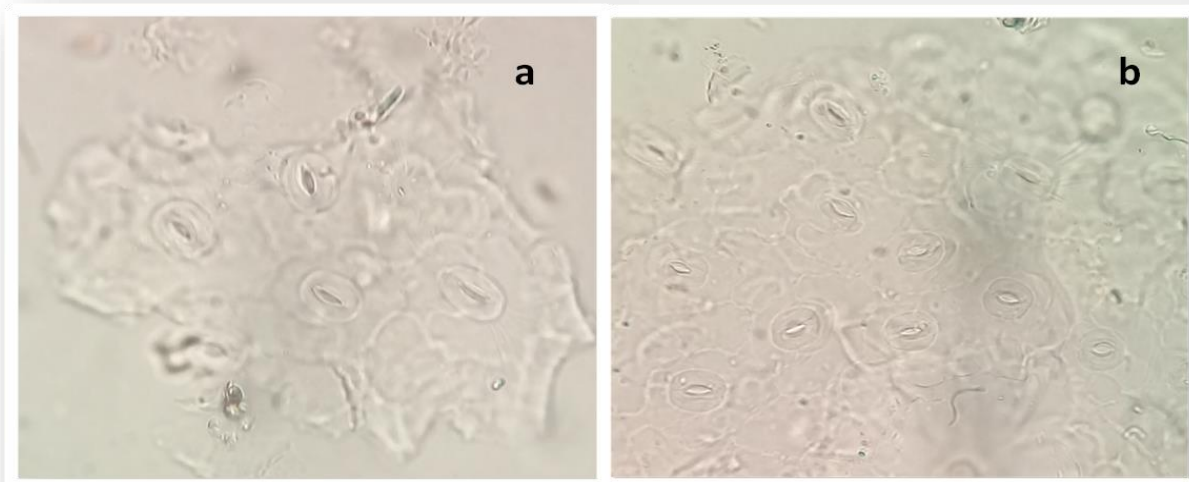
- |                                 |  |                                    |
|---------------------------------|--|------------------------------------|
| <b>1i</b> : Epiderme inférieure | <b>1s</b> : Epiderme supérieure  | <b>2</b> : Parenchyme palissadique |
| <b>3</b> : Parenchyme lacuneux  | <b>4</b> : Sclérenchyme au-dessus du faisceau libéroligneux secondaire | <b>3</b>                           |
| <b>5</b> : Poils tecteur        | <b>6</b> : Poil glandulaire unicellulaire                              | <b>1i</b>                          |

**Figure 141** : Coupe transversale du limbe de la feuille de *Thymus capitatus* observée au microscope optique (Gr x 40) x40

➤ *Description de la poudre végétale des feuilles*

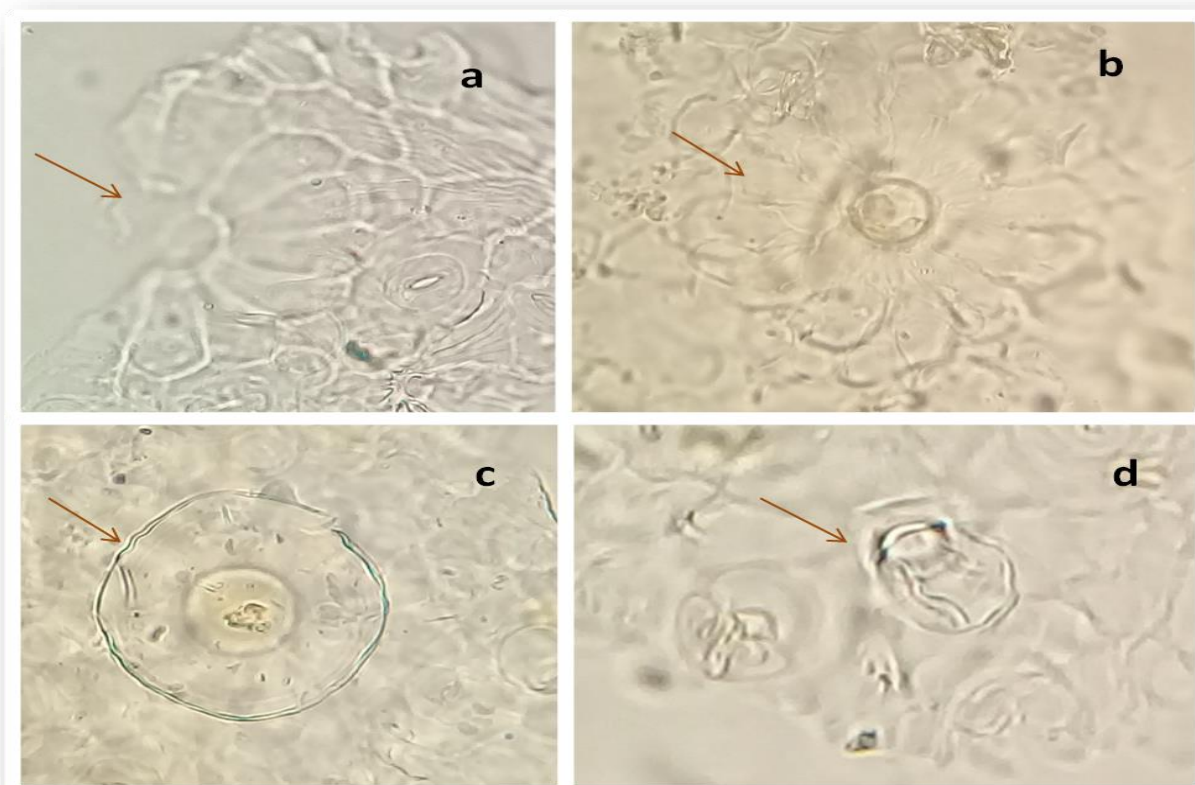
La poudre est de couleur brune-verdâtre, de forte odeur aromatique rappelant celle de thymol, épicé et de saveur chaude, légèrement amère. On observe au microscope optique les éléments suivants :

- ✓ Fragments d'épidermes qui présentent des cellules à parois anticlinales sinueuses, à épaississements en forme de chapelet et des stomates de type diacytique (Figure 142) ;
- ✓ Nombreux poils sécréteurs composés de 12 cellules sécrétrices dont la cuticule commune est soulevée par la sécrétion et prend la forme d'une vésicule globuleuse (Figure 143 a, b et c) ;
- ✓ Poils glanduleux à pédicelle unicellulaire et à tête globuleuse ou ovoïde (Figure 143 d) ;
- ✓ Poils tecteurs à paroi épaisse et cuticule verruqueuse en forme de dents pointues (Figure 144 a) ;
- ✓ Poils tecteurs verruqueux de plusieurs types : unicellulaires dressés ou légèrement coudés et bicellulaires ou tricellulaires, articulés (Figure 144 b, c, d, e) ;
- ✓ Nombreux faisceaux épais de fibres provenant des nervures principales (Figure 145 a) ;
- ✓ Fragments de parenchyme et de collenchyme (Figure 145 b).



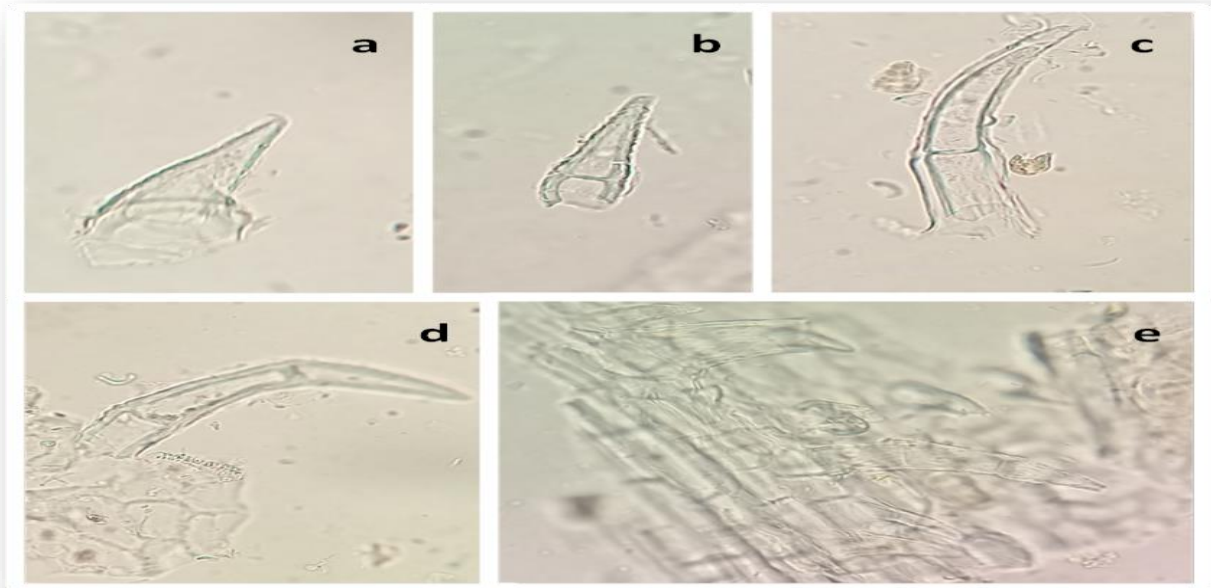
**a-b.** Épiderme vu de face former de cellules à épaissement en forme de chapelet accompagné de stomates diacytiques.

**Figure 142 :** Stomates de type diacytique de la poudre de feuilles de *Thymus capitatus* observés au microscope optique (Gr x 40) x 40



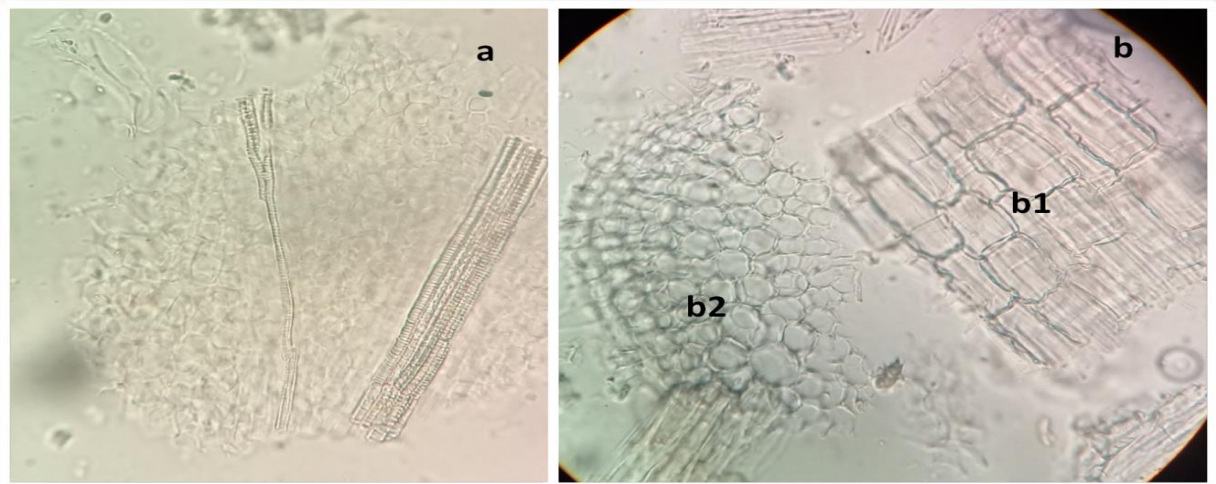
**a-b-c.** Poils sécréteurs à 12 cellules sécrétrices ; **d.** Poil glanduleux à tête unicellulaire.

**Figure 143 :** Poils sécréteurs de la poudre de feuilles de *Thymus capitatus* observés au microscope optique (Gr x 40) x 40



**a.** Poil tecteur unicellulaire à paroi verruqueuse ; **b.** Poil tecteur bicellulaire articulé ; **c.** Poil tecteur bicellulaire articulé légèrement incurvés ; **d.** Poil tecteur tricellulaire légèrement incurvés ; **e.** Poils tecteurs unicellulaires et tricellulaires légèrement coudés.

**Figure 144 : Poils tecteurs de la poudre de feuilles de *Thymus capitatus* observés au microscope optique (Gr x 40) x 40**



**a.** Fragment de parenchyme du mésophylle avec vaisseaux lignifiés ; **b.** Fragment de parenchyme général accompagné de collenchyme vu en section transversale (**b1**) et fragment de parenchyme général vu en section longitudinale (**b2**).

**Figure 145 : Autres éléments de la poudre de feuilles de *Thymus capitatus* observés au microscope optique (Gr x 10) x 40**



### VII.1.2.3. Origan « *Origanum vulgare* »

#### ➤ Description de la coupe transversale de la feuille

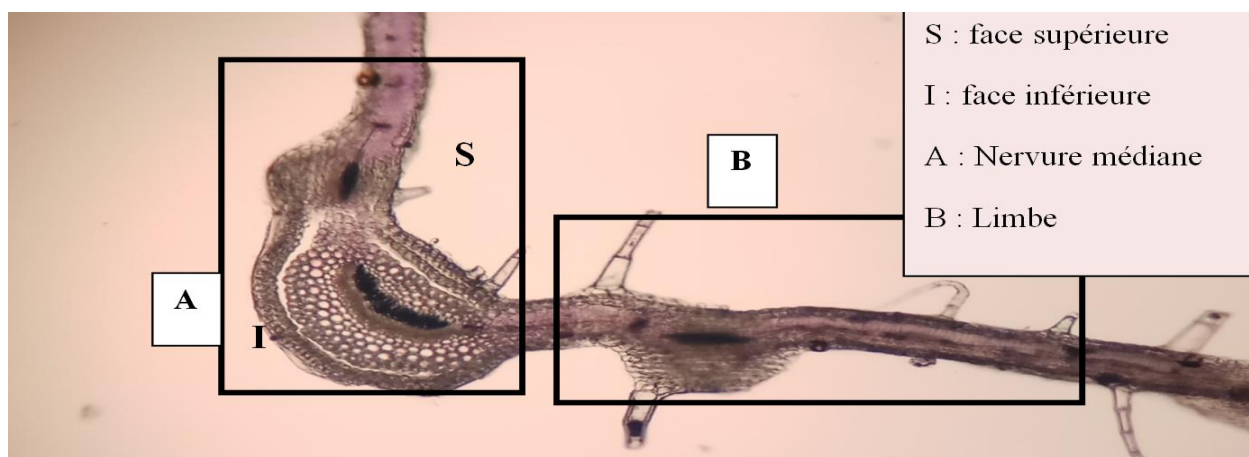
La feuille à symétrie bilatérale ; elle présente deux parties distinctes (Figure 146).

\* **Le limbe** : Présence des tissus suivants :

- ✓ Épidermes supérieur et inférieur : une seule couche de cellules allongées ou isodiamétriques avec une couche cuticulaire épaisse au-dessus et à signaler que les cellules de l'épiderme supérieur sont plus grosses que celles de l'épiderme inférieur (Figure 148) ;
- ✓ Un parenchyme palissadique formé d'une seule assise de cellules allongées à paroi cellulosique mince vers la face supérieure ; et un parenchyme lacuneux vers la face inférieure (Figure 148) ;
- ✓ Les poils glandulaires sont de 2 types, avec un pied ou non ; le premier type a une tête sécrétrice avec une seule cellule et un pied de 1 à 3 cellules. L'autre est de type Labiatae à 8 cellules ou plus rarement à 12 ou 16 cellules sécrétrices (Figure 149).

\***Nervure médiane** : saillante surtout sur la face inférieure et présente :

- ✓ Deux épidermes qui sont identiques à ceux du limbe ;
- ✓ Un parenchyme cortical formé de cellules polygonales arrondies à parois cellulosiques fines ;
- ✓ Un collenchyme sous l'épiderme supérieur et inférieur, constitué de cellules à parois cellulosiques épaisses ;
- ✓ Faisceaux libéro-ligneux constitués de bois vers la face supérieure et de liber vers la face inférieure ; la plupart des feuilles jeunes sont entourées de tissu sclérenchymateux (Figure 147).



**Figure 146 : Coupe transversale de la feuille d'*Origanum vulgare* vue au microscope optique (Gr x 4) x 4**



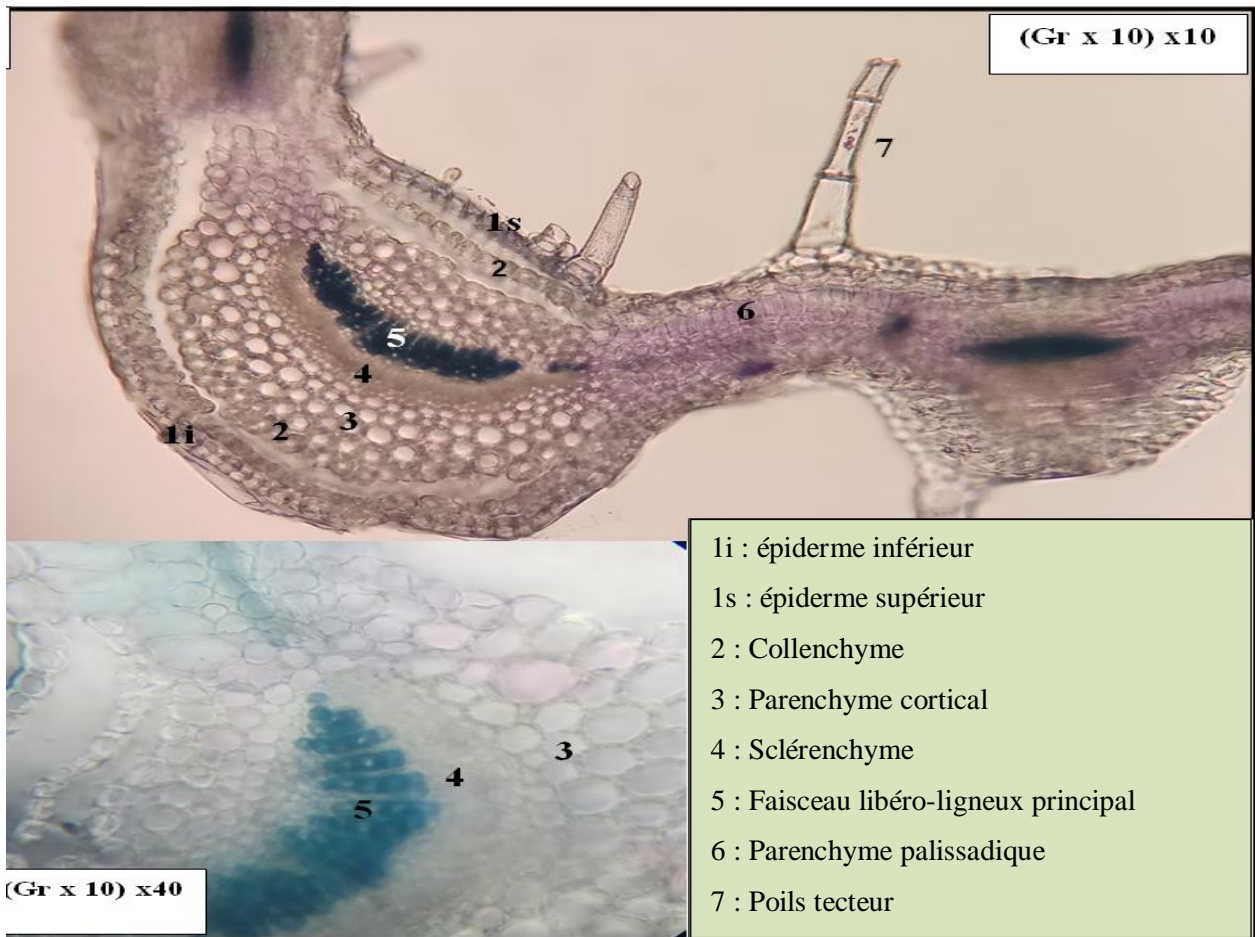


Figure 147 : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille d'*Origanum vulgare* vue au microscope optique

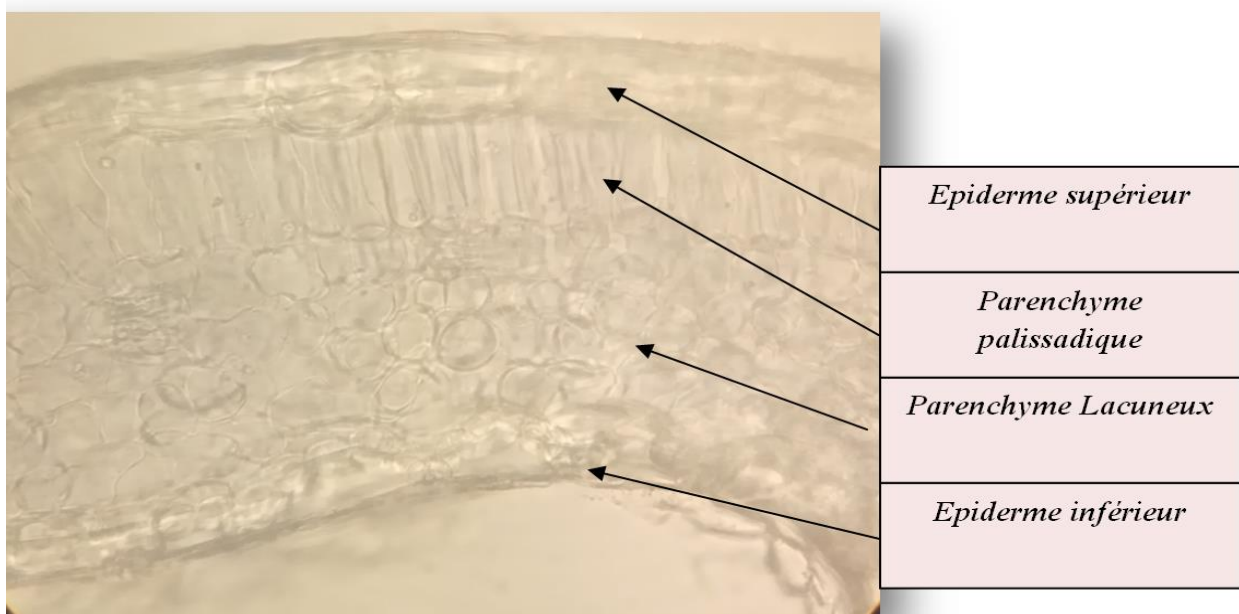
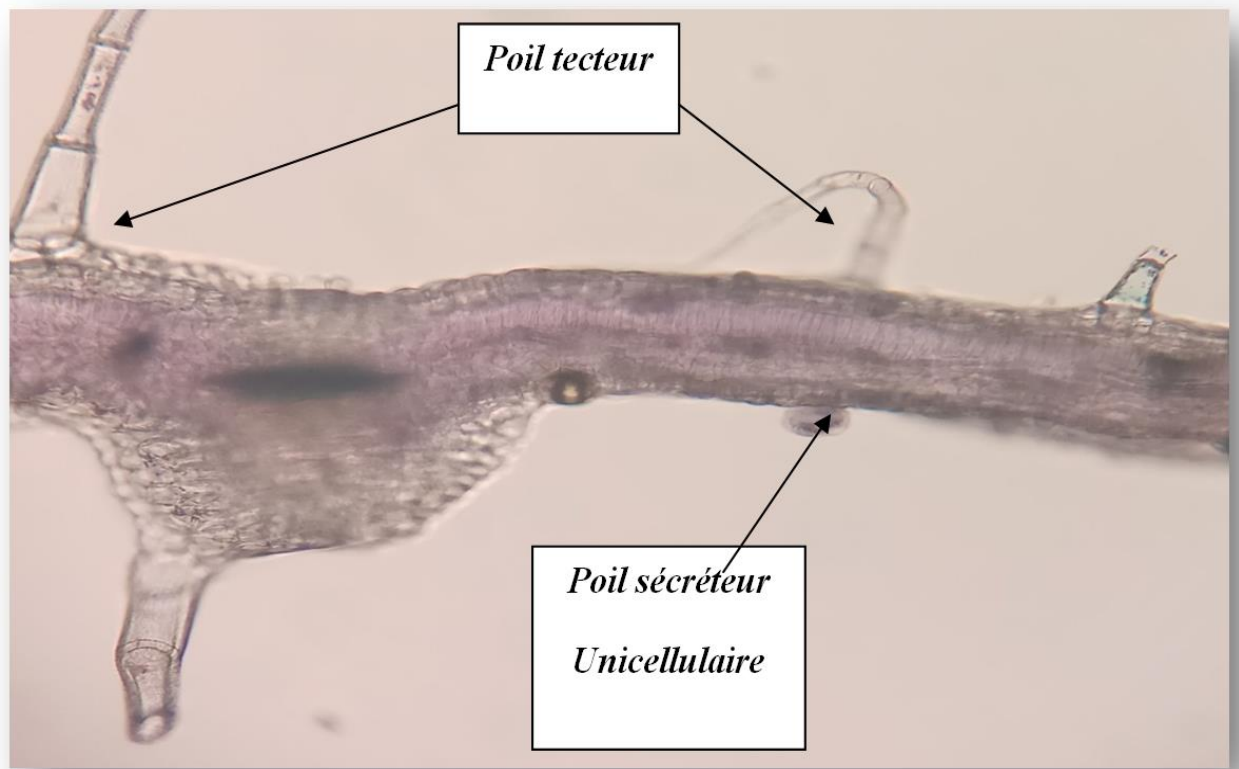


Figure 148 : Coupe transversale du limbe de la feuille d'*Origanum vulgare* vue au microscope optique (Gr x 10) x 40

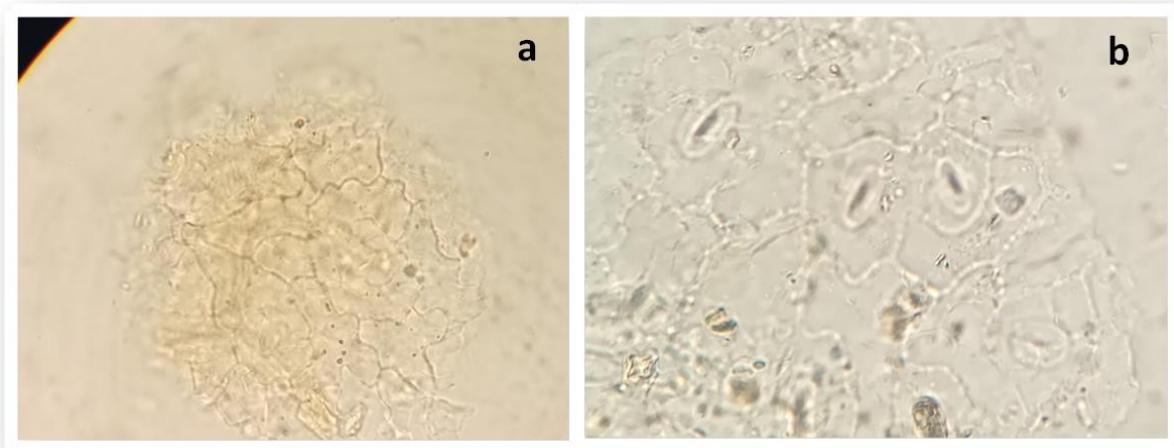


**Figure 149 : Poils tecteurs et sécréteurs d'*Origanum vulgare* vue au microscope optique (Gr x 10) x10**

➤ **Description de la poudre végétale des feuilles :**

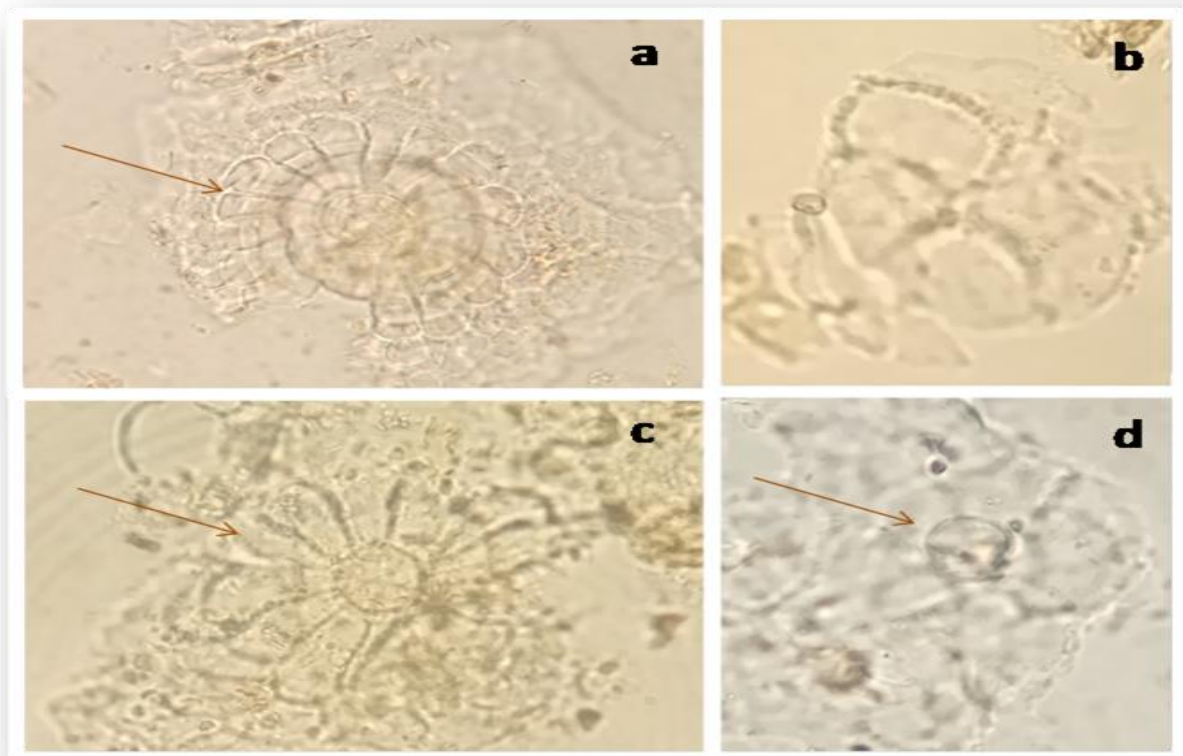
La poudre est de couleur brune-verdâtre, peu différente de celle de *Thymus capitatus*, d'odeur aromatique caractéristique, épicé et de saveur chaude, légèrement amère. On observe au microscope optique les éléments suivants :

- ✓ Fragments d'épiderme supérieur avec cellules à parois sinueuses, accompagné de parenchyme palissadique (Figure 150 a) ;
- ✓ Fragments de l'épiderme inférieur composé de cellules à parois fine et irrégulièrement épaissies avec des stomates de type diacytique (Figure 150 b) ;
- ✓ Poils sécréteurs de type Lamiaceae, à (8-16) cellules (Figure 151 a, b et c) et autres peu abondants à tête unicellulaire (Figure 151 d) ;
- ✓ Poils tecteurs à paroi épaisse et verruqueuse et contiennent de fines aiguilles d'oxalate de calcium, coniques, pluricellulaires et en dents de scie (Figure 152 a, b et c) ;
- ✓ Grains de pollen à exine lisse, peu fréquents (Figure 152 d et e) ;
- ✓ Fragments de parenchyme avec vaisseaux lignifiés et de parenchyme palissadique (Figure 153).



**a.** Fragment de l'épiderme supérieur (cellules à parois sinueuses) ; **b.** Fragments de l'épiderme inférieur composé de cellules à parois fine et irrégulièrement épaissies avec des stomates diacytiques.

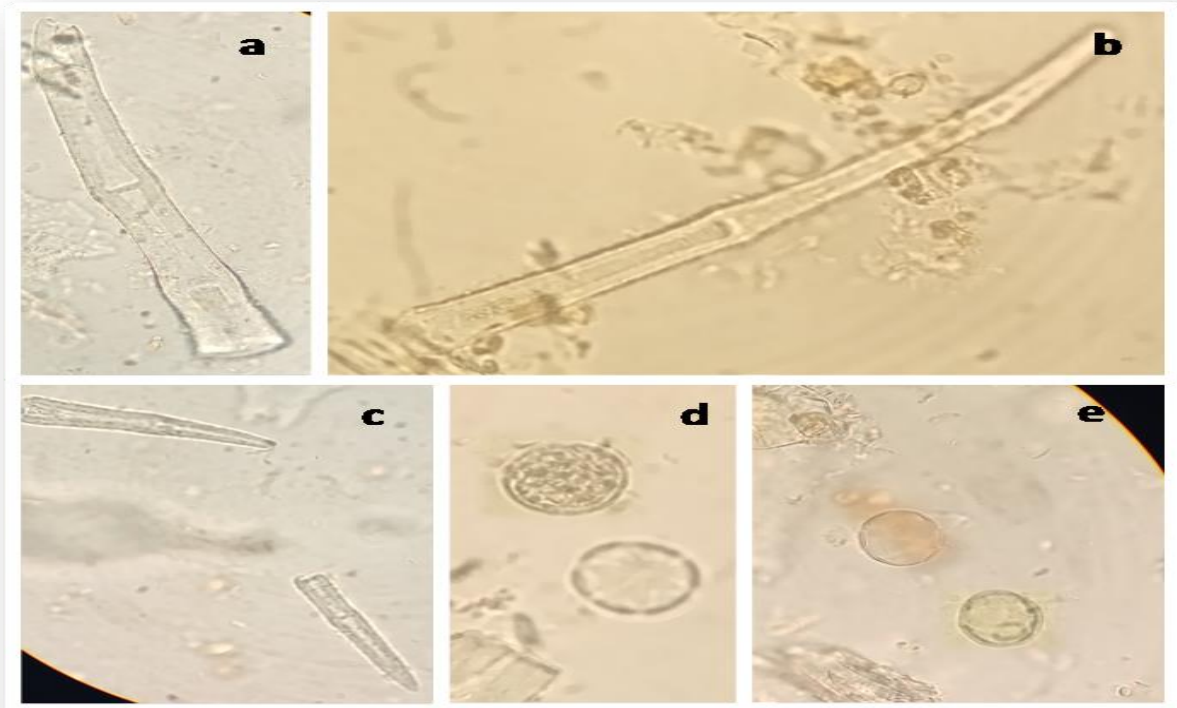
**Figure 150 :** Fragments d'épiderme supérieur et inférieur caractéristiques de la poudre de feuilles d'*Origanum vulgare* observés au microscope optique (Gr x 10) x 40



**a.** Poil sécréteur à 16 cellules ; **b.** Poil sécréteur à 8 cellules ; **c.** Poil sécréteur à 12 cellules ; **d.** Poil sécréteur à tête unicellulaire.

**Figure 151 :** Poils sécréteurs de la poudre de feuilles d'*Origanum vulgare* observés au microscope optique (Gr x 40) x 40





a-b-c. Poils tecteurs pluricellulaires ; d-e. Grains de pollen

Figure 152 : Poils tecteurs pluricellulaires et grains de pollen caractéristiques de la poudre de feuilles d'*Origanum vulgare* observés au microscope optique (Gr x 10) x 40



a1. Fragments de parenchyme du mésophylle avec vaisseaux lignifiés ; a2. Parenchyme palissadique.

Figure 153 : Autres éléments non caractéristiques de la poudre de feuilles d'*Origanum vulgare* observés au microscope optique (Gr x 10) x 40

### VII.1.2.4. Eucalyptus « *Eucalyptus globulus* L. *bicostata* »

#### ➤ Description de la coupe transversale de la feuille âgée

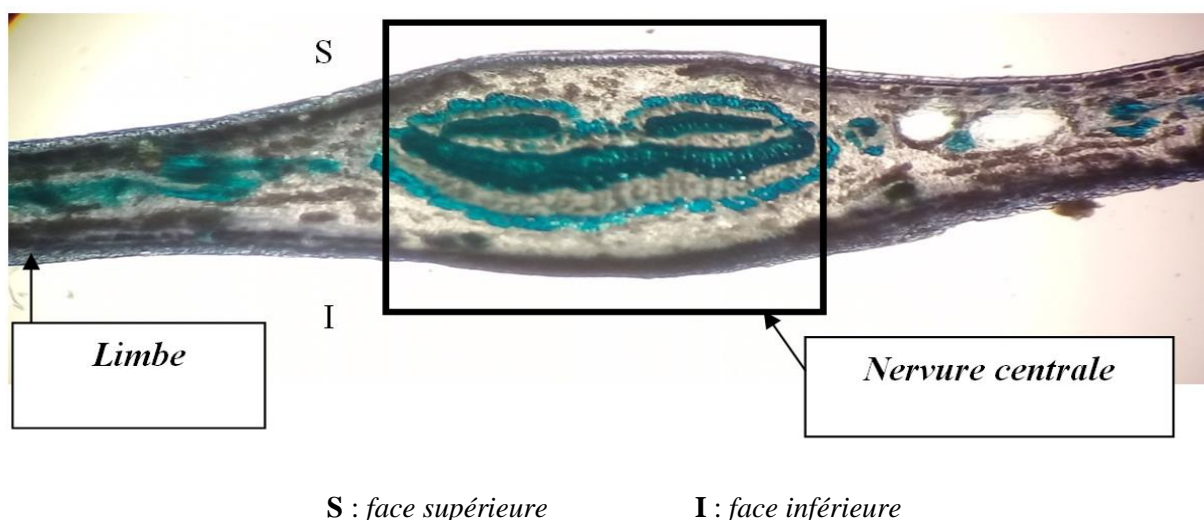
La coupe à symétrie bilatérale ; elle présente deux parties différentes (Figure 154).

\* **Le limbe** : Présent l'histologie suivante (Figure 156) :

- ✓ Un épiderme supérieur et inférieur composé d'une seule couche de petites cellules, et les cellules épidermiques inférieures sont légèrement incurvées vers la cuticule ;
- ✓ Un parenchyme palissadique, généralement aligné régulièrement en deux rangées, rarement en une seule rangée de cellules compactes de palissade ;
- ✓ Un parenchyme spongieux, composé de trois à cinq couches de parenchyme avec cellules irrégulièrement disposées ; ces cellules sont projetées en direction du parenchyme palissadique (mésophile centrique) ;
- ✓ Des macles et prismes d'oxalate de calcium dans tout le parenchyme ;
- ✓ Des poches sécrétrices d'essences de type schizogènes, caractéristique de la famille des Myrtaceae ; sous épidermique traversant le parenchyme lacuneux (Figure 155 /6).

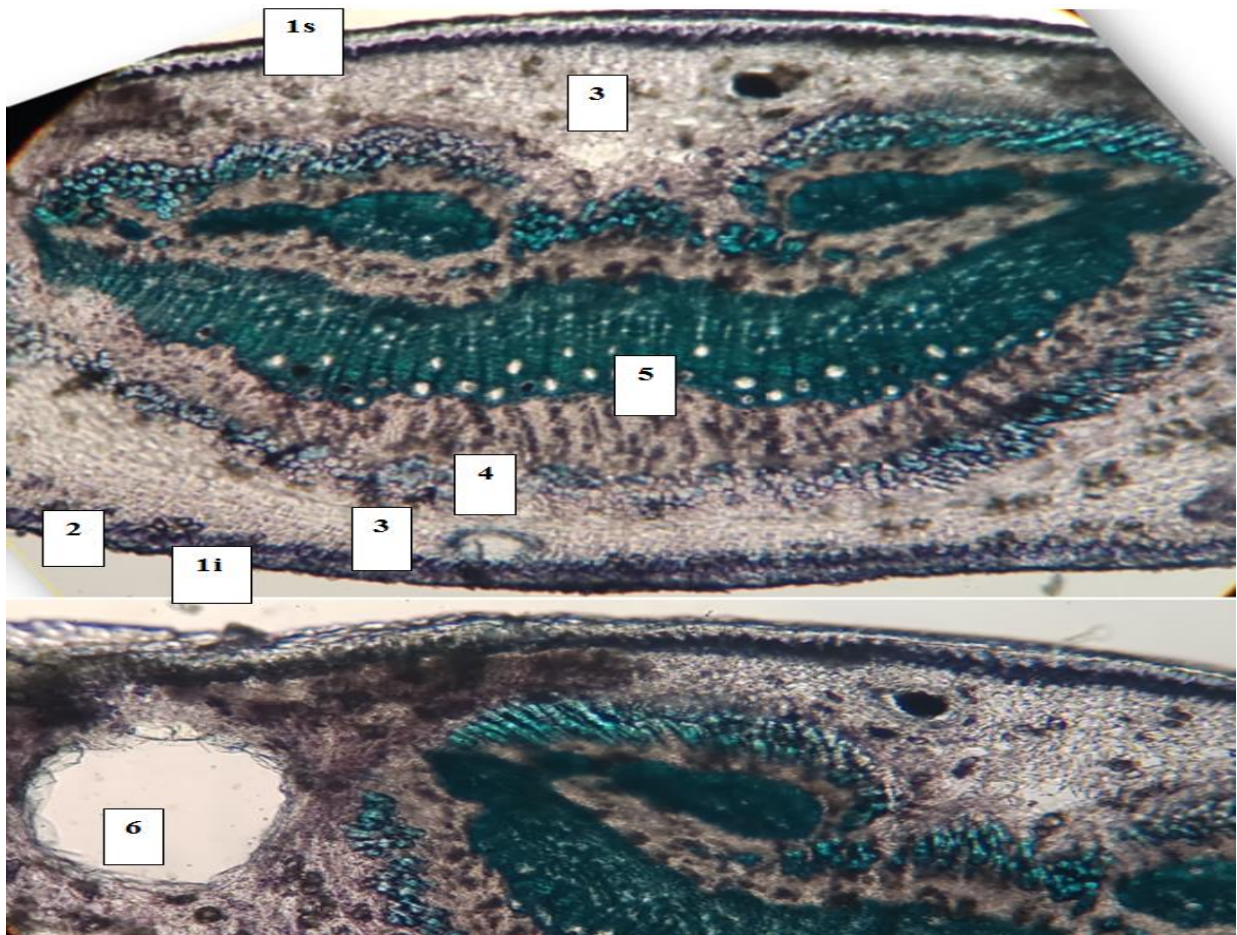
\***La nervure centrale** : peu saillante sur les deux faces et présente les tissus suivants :

- ✓ Cellules épidermiques en forme d'éventail et plus saillantes celles de l'épiderme inférieur ;
- ✓ Un collenchyme sous épidermique formé de cellules à paroi cellulosique épaisse, aussi bien à la face supérieure qu'à la face inférieure ;
- ✓ Un faisceau libéro-ligneux principal, en arc interrompu de péryclicque légèrement lignifié, et deux petits faisceaux libéro-ligneux inverses avec de nombreux macles et prismes d'oxalate de calcium surtout dans le parenchyme cortical (Figure 155).



**Figure 154** : Coupe transversale de la feuille d'*Eucalyptus globulus* L. observée au microscope optique (Gr x 10) x 10





1i : Epiderme inférieur  
 1s : Epiderme supérieur  
 2 : Cuticule

3 : Collenchyme  
 4 : Fibre sclérifiés  
 5 : Faisceau libéro-ligneux principal

6 : Poche sécrétrice schyzogène

Figure 155 : Coupe transversale de la nervure médiane de la feuille d'*Eucalyptus globulus* L. observée au microscope optique (Gr x 40) x 40

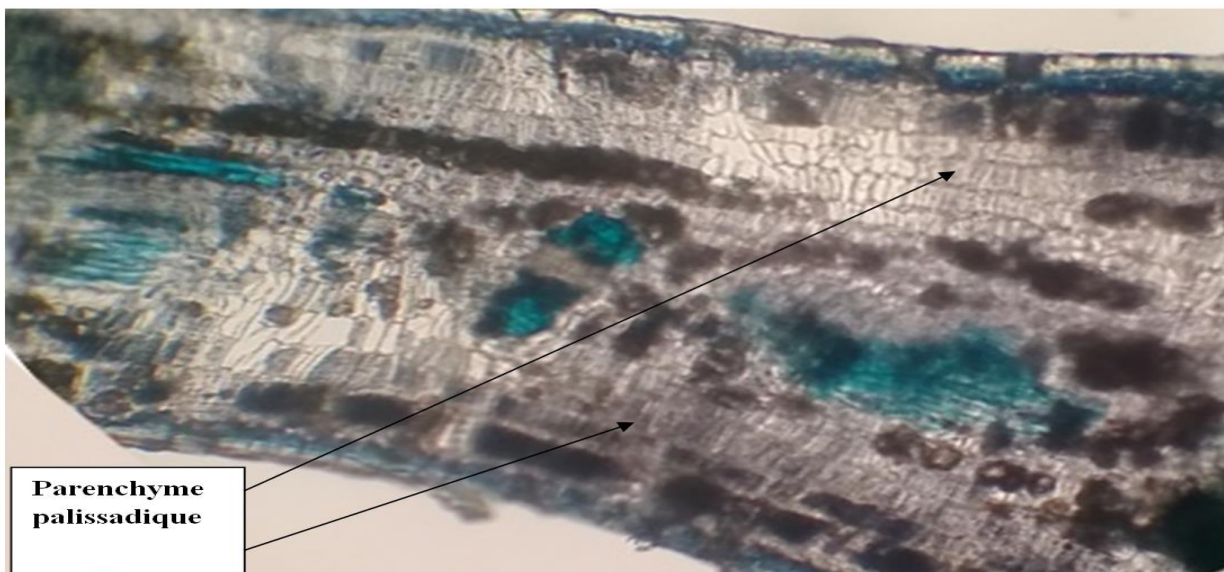
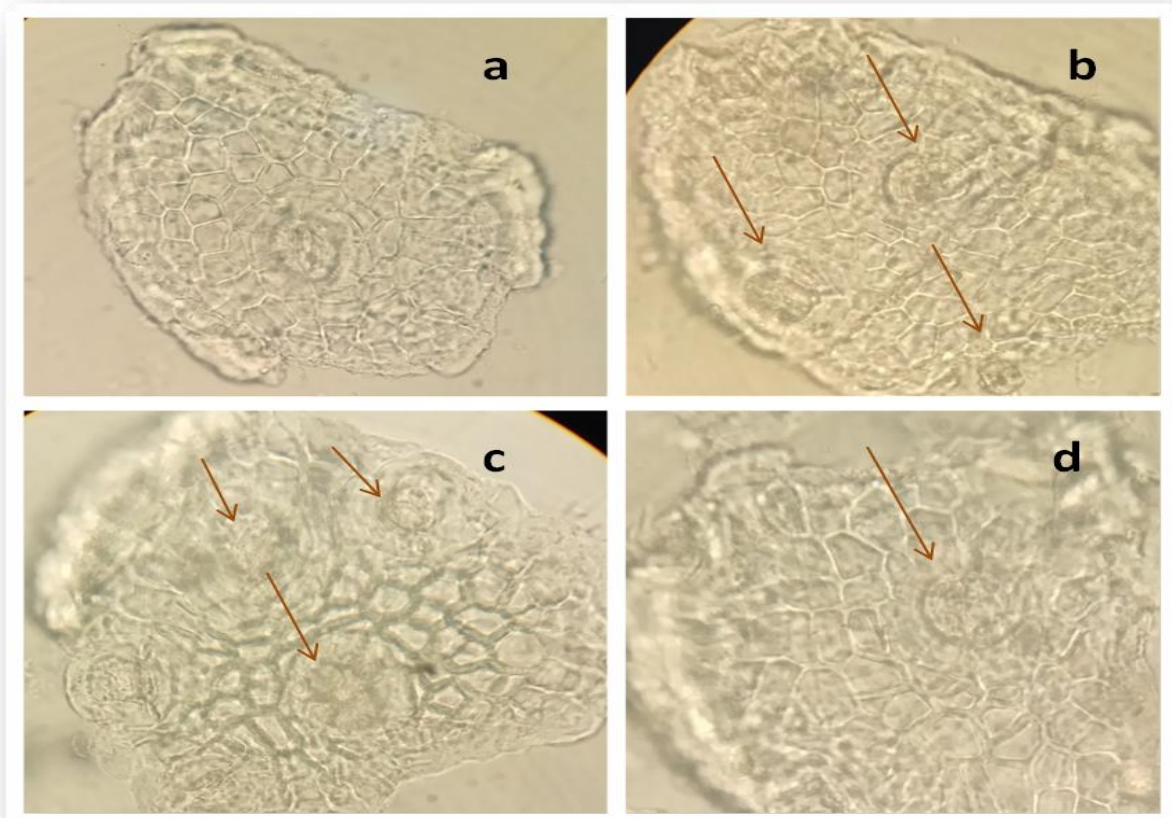


Figure 156 : Coupe transversale du limbe de la feuille d'*Eucalyptus globulus* L. vue au microscope optique (Gr x 40) x 40

➤ *Description de la poudre végétale des feuilles*

La poudre est de couleur vert-grisâtre, d'odeur aromatique caractéristique et de saveur légèrement amère, astringente, d'abord chaude puis donnant une sensation de fraîcheur. On observe au microscope optique les éléments suivants :

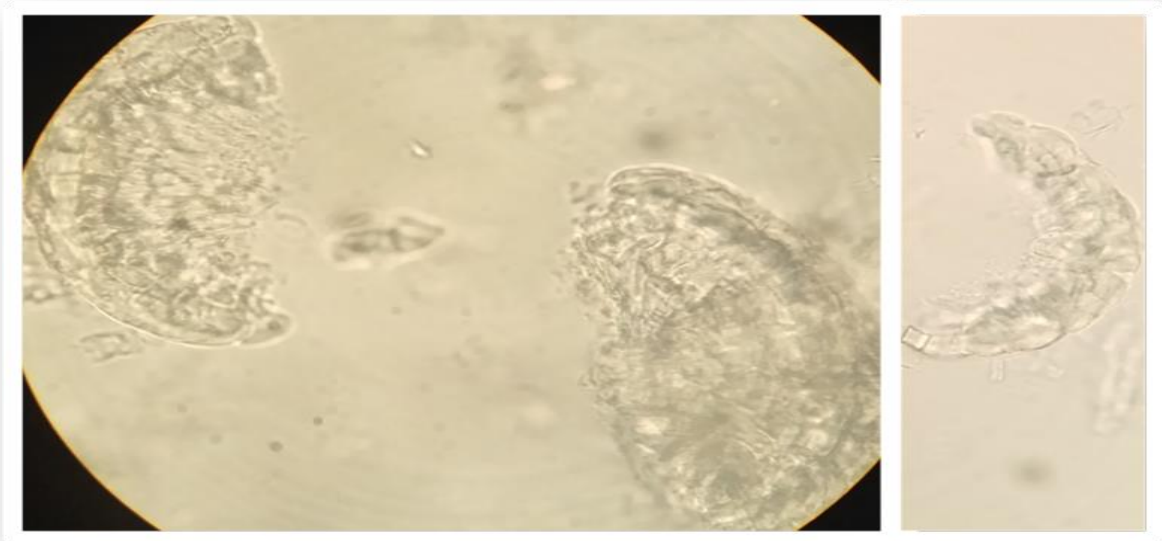
- ✓ Fragments de limbe glabre formé de petites cellules épidermiques à paroi épaisse, comportant une cuticule épaisse et de nombreux stomates de type anomocytiques (Figure 157 a, b, d) ;
- ✓ Fragments de mésophylle contenant de grandes poches sécrétrices schizogènes (Figure 158) ;
- ✓ Fragment de fibres et de parenchyme palissadiques contenant des prismes et des macles d'oxalate de calcium (Figure 159) ;
- ✓ Epidermes recouverts d'une cuticule épaisse, accompagné de parenchyme palissadique vu en section transversale (Figure 160 a) ;
- ✓ Fragments de vaisseaux de xylème (Figure 160 b et c).



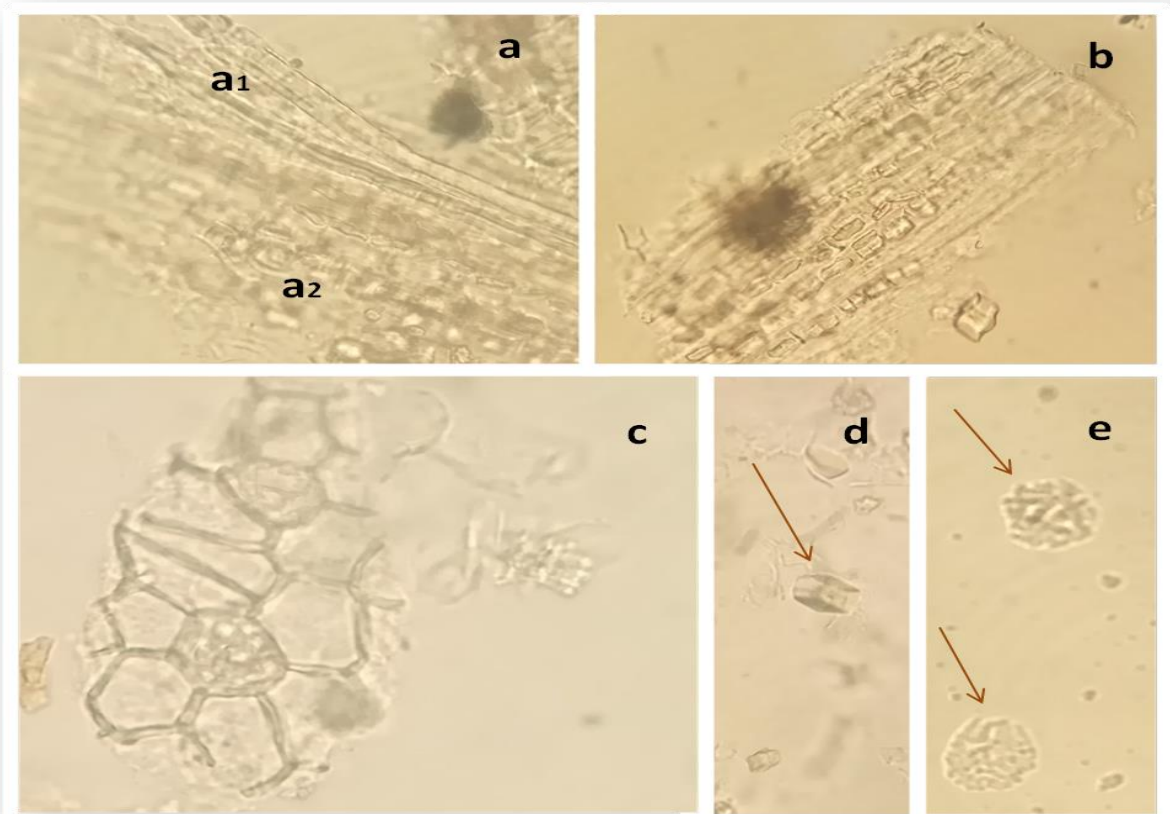
**a-b-d.** Cellules épidermiques à paroi épaisse et stomate anomocytique (vue de face) ; **c.** Poils sécréteurs.

**Figure 157 : Stomates et poils sécréteurs caractéristiques de la poudre de feuilles d'*Eucalyptus globulus* L. observés au microscope optique (Gr x 40) x 40**





**Figure 158 :** Fragments de poche sécrétrice schizogène caractéristiques de la poudre de feuilles d'*Eucalyptus globulus* L. observés au microscope optique (Gr x 40) x 40



**a.** Fragments de fibres (a1), accompagnés des cellules contenant des prismes d'oxalate de calcium (a2),  
**b.** Cellules contenant des prismes d'oxalate de calcium, **c.** Cellules de parenchyme avec macule d'oxalate de calcium, **d.** Prisme d'oxalate de calcium, **e.** Macles d'oxalate de calcium.

**Figure 159 :** Cellules avec prismes et macles d'oxalate de calcium caractéristiques de la poudre de feuilles d'*Eucalyptus globulus* L. observés au microscope optique (G x 40) x 40



**a.** Epidermes recouverts d'une cuticule épaisse, accompagné de parenchyme palissadique (vue en section transversale), **b.** Fragment de vaisseaux lignifiés, **c.** Débris de vaisseau.

**Figure 160 : Autres éléments de la poudre de feuilles d'*Eucalyptus globulus* L. observés au microscope optique (G x 10) x 40**

Cette section de notre travail pratique a été effectuée dans le but de décrire les parties utilisées des plantes étudiées sous ses aspects botaniques macro et microscopiques. Elle a été réalisée principalement au niveau du laboratoire de Pharmacognosie (Département de Pharmacie / Faculté de Médecine / Université BOUBNIDER Salah Constantine 3).

Par cette contribution, nous avons essayé de mettre en relief les éléments caractéristiques de ces plantes médicinales à fin de faciliter et confirmer leurs identifications et éviter la confusion avec d'autres sous espèces ou variétés.

Dans leurs globalités, l'ensemble des résultats de divers essais d'identifications botaniques pratiqués sur les quatre drogues étudiées. Touchant surtout le volet microscopique et présentant des structures anatomiques d'une valeur certaine dans la diagnose différentielle des plantes étudiées ; à savoir les espèces d': *Aloysia triphylla* (nombreux poils cystolithiques courts unicellulaires ; stomates anomocytiques ; nombreux poils sécréteurs, subsessiles à têtes globuleuse) ; *Thymus capitatus* (stomates de type diacytique ; nombreux poils sécréteurs composés de 12 cellules sécrétrices ; poils glanduleux à pédicelle unicellulaire et à tête globuleuse ou ovoïde) ; *Origanum vulgare* (trichomes de type lamiacées courts, unicellulaires et rarement coniques ; stomates diacytiques ; trichomes sécrétoires avec 8 à 12 cellules ; des grains de pollens lisses, sphériques et abondant) et *Eucalyptus globulus* L.*bicostata* (nombreux stomates anomocytiques ; des rosettes et des cristaux prismatiques d'oxalates de calcium ; poches sécrétrices schizogènes) ; et qui sont cohérentes avec les données de la littérature ainsi que d'autres travaux antérieurs ; ce qui nous a permis d'assurer une identification botanique poussée de ces taxons, en tenant compte des interférences avec d'autres espèces ou hybrides [189, 221, 222, 231].

## VII.2. ESSAIS PHYSICOCHEMISTIQUES

### VII.2.1. CARACTÈRES DES HUILES ESSENTIELLES

On a remarqué que les huiles essentielles extraites ont une forte odeur aromatique, caractéristique pour chaque drogue, et une uniformité de couleur qui varie du jaune pâle au jaune peu foncé, à l'exception de l'HE de *Thymus capitatus*. (Tableau 46).

**Tableau 46 : Caractères organoleptiques des HEs extraites**

	<b>Aspect</b>	<b>Couleur</b>	<b>Odeur</b>
<i>Aloysia triphylla</i>	Liquide mobile, limpide	Jaune pâle	Fraîche, citronnée
<i>Thymus capitatus</i>	Liquide mobile, limpide, un peu visqueux	Orange à brun foncé	Aromatique, épicée
<i>Origanum vulgare</i>	Liquide mobile, limpide	Jaune, un peu foncé	Aromatique, intense
<i>Eucalyptus globulus</i>	Liquide mobile, limpide	Jaune pâle (un peu clair que l'HE de la verveine)	Aromatique, fraîche et camphrée

A l'exception de l'HE de *Thymus capitatus*, dont la couleur est caractéristique (Orange à brun foncé), les trois autres HEs présentent une couleur variant du jaune pâle au jaune peu foncé. Les HEs des deux thyms exhibent une odeur fortement thymolée, alors que celle de l'eucalyptus et la verveine sont balsamiques (camphrée) et fortement citronnées, respectivement. Ces caractères sont conformes aux descriptions faites dans le référentiel de bibliographie (Ph.Eur.).

### VII.2.2. RENDEMENTS D'EXTRACTIONS DES HUILES ESSENTIELLES

Les rendements des HEs sont calculés sur la base de 100 g de matière sèche (feuilles fragmentées), et sont exprimés en moyenne +/- ET (n=4). Ils sont présentés en mL/kg et en pourcentage (%) selon les recommandations de la Ph.Eur. et AFNOR, respectivement (Tableau 47, Figure 161).

Tableau 47 : Rendements en huiles essentielles des drogues végétales étudiées

Rendement				<i>Ph.Eur.</i>	<i>Autre réf.</i>
HEs étudiées	<i>mL/100g m.s.</i>	<i>mL/kg</i>	<i>%(m/m)</i>	<i>mL/kg</i>	<i>%(m/m)</i>
<i>Aloysia triphylla</i>	0,54	05,4	0,55	≥ 2	0,10-0,70 [343]
<i>Thymus capitatus</i>	1,17	11,7	1,09	≥ 12	0,60-1,80 [344]
<i>Origanum vulgare</i>	2,95	29,5	2,62	≥ 25	2,34/2,50 [345,346]
<i>Eucalyptus globulus</i>	1,72	17,2	1,48	≥ 15	1,20-3,00 [347]

A l'exception de l'HE de *T.capitatus*, les rendements en HE d'*A.triphylla*, d'*O.vulgare* et d'*E.globulus* sont au-dessus de celles fixées par les normes pharmacopoeiales. Une légère différence est cependant observée dans le rendement de *T.capitatus*, où la valeur obtenue (11,7 mL/kg) est légèrement au-dessous de celle de la Pharmacopée européenne (12 mL/kg). Cette différence peut être expliquée par le phénomène de la variabilité naturelle (facteurs génétiques, géo-climatiques), la période de récolte et la méthode de distillation.

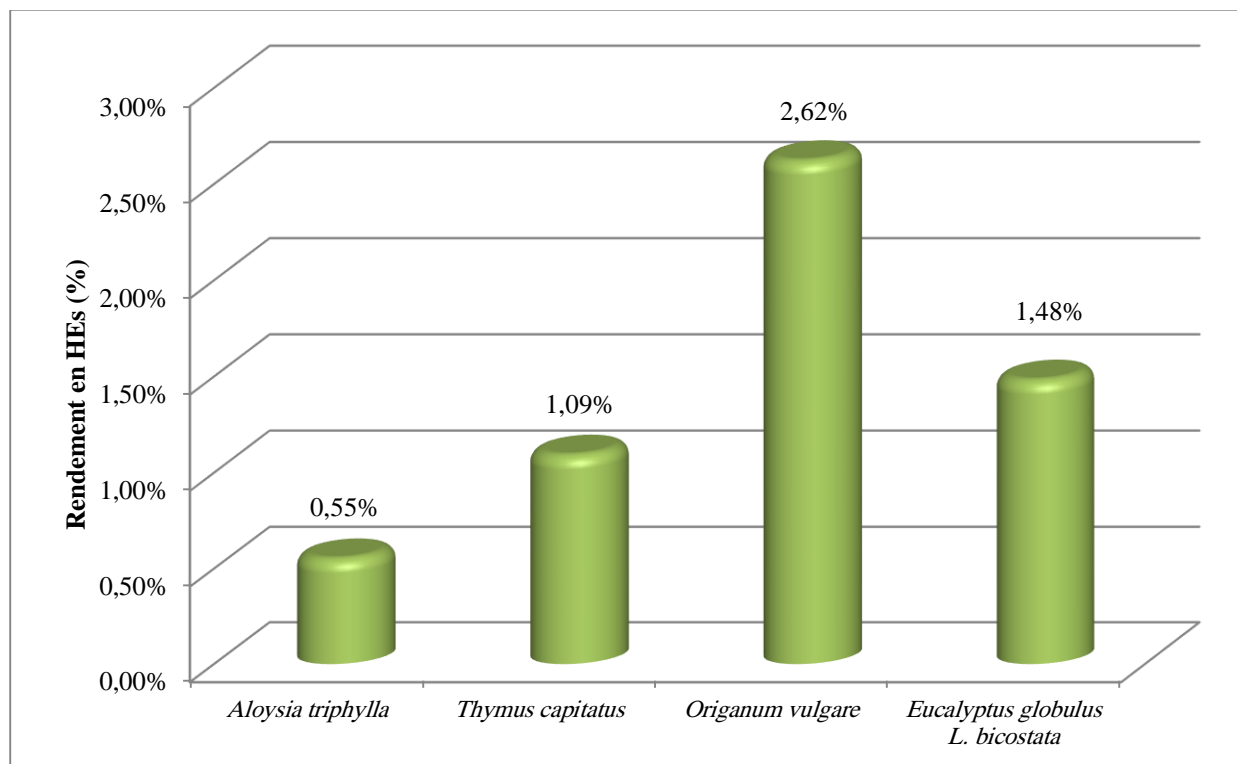


Figure 161 : Histogramme comparatif des rendements en HE (%) des quatre drogues étudiées

Tableau 48 : Exigences de différentes références en matière de rendement

		<i>Aloysia triphylla</i>	<i>Thymus capitatus</i>	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>
Rendement en HE	Selon La Pharmacopée Eur.7 éd en (ml/kg)	≥ 2 mL/kg	≥ 12 mL/kg	≥ 25 mL/kg	≥ 15 mL/kg
	Autres références (M/M) en (%)	0,1 - 0,7 % [343]	0,6 - 1,8 % [344]	2,34 % [345] ou 2,50 % [346]	1,2 % - 3 % [347]

## VII.2.3. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

Les valeurs des indices mesurées sont exprimées dans le tableau 49 avec celles rapportées par d'autres références.

Tableau 49 : Valeurs d'indices physicochimiques des HEs étudiées

		<i>A. triphylla</i>		<i>T. capitatus</i>		<i>O. vulgare</i>		<i>E. globulus</i>	
		Mesurée	Norme	Mesurée	Norme	Mesurée	Norme	Mesurée	Norme
ESSAIS	Indice de réfraction	1,490	1,483-1,498 [348]	1,508	1,483-1,510 (NFT 75-112)	1,498	1,500-1,550 [349]	1,468	1,460-1,476 (NFT 75 – 112. 2000)
	Densité relative (d <sub>20</sub> )	0,920	0,890-0,920 [348]	0,804	0,894-0,930 (NFT 75-111)	0,905	0,955-0,965 [349]	0,925	0,906-0,92 (NFT 75 - 111. 2000)
	Indice d'acide	1,26	-	1,75	≤ 2 (NFT-60-2000)	1,32	-	1,18	0,84-3,74 (AFNOR NFT 75 – 103. 2000)

## VII.2.3.4. Miscibilité à l'éthanol

La miscibilité à l'éthanol des huiles essentielles des espèces étudiées est indiquée dans le tableau 50.

Tableau 50 : Résultats de la miscibilité à l'éthanol des HEs étudiées

	<i>Aloysia triphylla</i>	<i>Thymus capitatus</i>	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>
<b>Volume de dissolution (mL)</b>	0,1	0,2	0,1	0,3
<b>Volume de limpidité (mL)</b>	9,5	9	17.5	13

Les HEs d'*Origanum vulgare* et d'*Eucalyptus globulus* présentent des volumes de limpidité très élevés (17.5 et 13 respectivement), par contre les HEs d'*Aloysia triphylla* et de *Thymus capitatus* donnent des valeurs assez comparables.

L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage, cependant l'indice de réfraction est un critère de pureté d'une HE ; un faible indice de réfraction indique la faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser l'utilisation de cette dernière dans les produits cosmétiques [350].

- ✓ L'HE d'eucalyptus a montré des paramètres physicochimiques ( $\eta^D_{20}$ , d<sub>20</sub>, IA) qui se situent dans les proportions fixées par l'AFNOR. Selon la pharmacopée européenne la miscibilité de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est de 5V/V dans l'éthanol 70 %, par conséquent, notre huile ne répond pas à cette norme (dissoute à 13 V). Cette non-conformité peut être expliquée par l'abondance et la forte concentration de composants chimiques, entraînant une faible solubilité dans l'éthanol.
- ✓ La densité relative de l'HE du *Thymus capitatus* est légèrement basse à l'opposé de son indice de réfraction et indice d'acide qui se situent dans les normes proposées par l'AFNOR. Cette légère différence peut être expliquée par l'origine géographique des plantes étudiées ou bien par l'utilisation des techniques différentes dès la récolte jusqu'à l'obtention et l'analyse de l'huile essentielle.
- ✓ Dans le cas de l'HE d'*origanum vulgare*, les valeurs des trois indices mesurés sont cohérentes avec l'étude faite par Farah HADDOUCHI et al. en 2009 [351].
- ✓ Concernant l'indice de réfraction et la densité relative de l'HE de la verveine, les résultats sont compatibles avec les données bibliographiques mentionnées dans les tableaux précédents.

- ✓ Pour l'indice d'acide de l'HE de la verveine, on n'a pas trouvé des études de travaux antérieurs afin de comparer et valoriser nos résultats.
- ✓ Par manque de référentiel bibliographique concernant la miscibilité à l'éthanol des trois HEs étudiés du thym, d'origan et de verveine ; on n'a pas pu évaluer leurs conformités.

#### VII.2.4. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE CPG-SM

Les résultats des analyses chromatographiques des huiles essentielles effectuées par CPG-SM sont exposés dans cette partie.

##### *Aloysia triphylla*

Le tracé chromatographique et la composition de l'HE d'*A. triphylla* sont décrits dans la figure 162 et le tableau 51, respectivement.

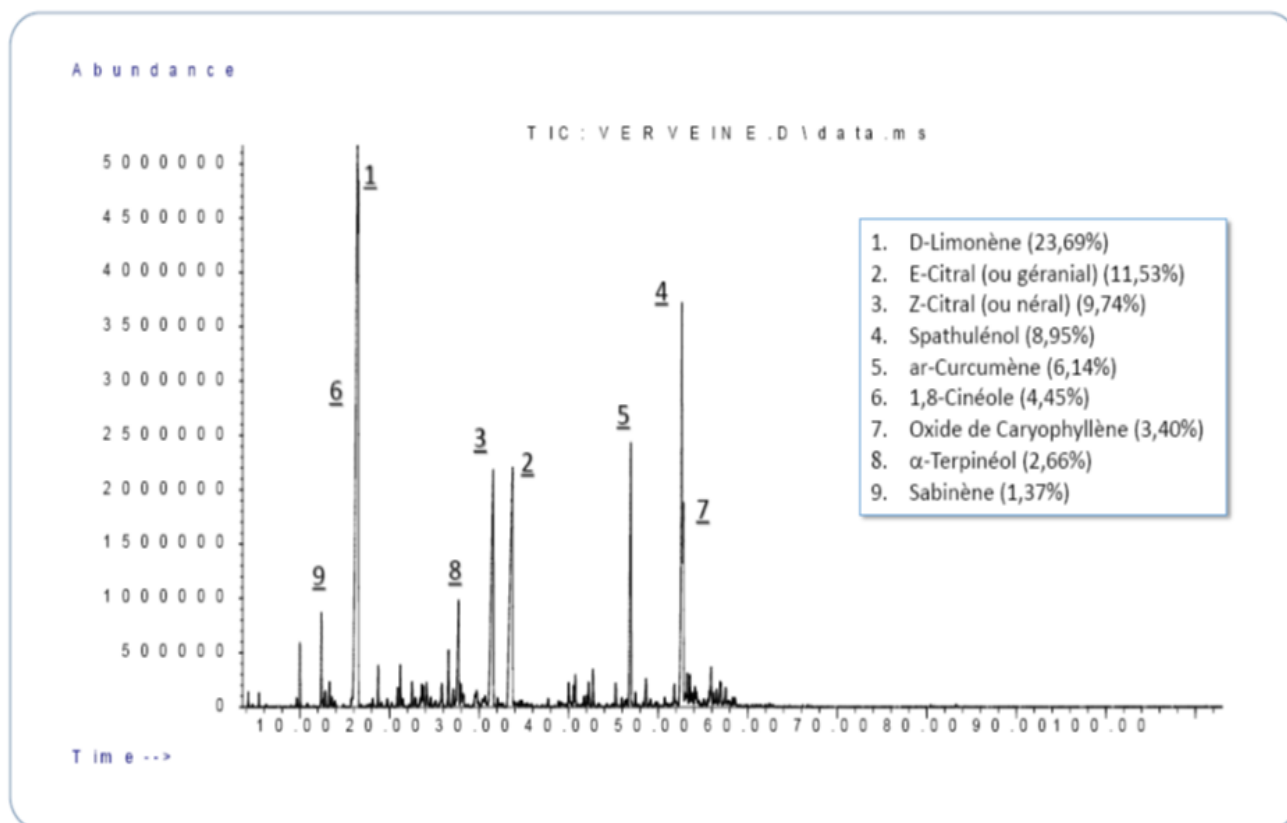


Figure 162 : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE d'*A. triphylla*.

Tableau 51 : Composition chimique de l'HE des feuilles d'*A. triphylla*.

N°	RT mn	KI <sup>st</sup>	Composé	%#
1	6,19	844	trans-Hex-2-enal	0,03
2	9,61	925	Tricyclène	0,11
3	10	932	α-Pinène	0,83



4	10,84	946	Camphène	0,04
5	11,55	958	Benzaldehyde	0,07
6	12,4	972	<b>Sabinène*</b>	<b>1,37</b>
7	12,55	974	$\beta$ -Pinène	0,10
8	12,83	979	1-Octen-3-ol	0,36
9	13,55	991	6-Methyl-5-heptene-2-one	0,38
10	13,59	992	$\beta$ -Myrcène	0,19
11	13,91	997	Octan-3-ol	0,13
12	14,86	1011	Heptadienal (2E, 4E)	0,05
13	15,8	1024	<i>p</i> -cymene	0,14
14	16,45	1033	<b>D-Limonène*</b>	<b>23,69</b>
15	16,54	1034	<b>1,8-Cinéole*</b>	<b>4,45</b>
16	17,5	1047	(E)- $\beta$ -Ocimene	0,03
17	18,16	1057	$\gamma$ -Terpinène	0,12
18	18,75	1065	cis-Sabinene hydrate	0,61
19	19,12	1070	cis-Linalool oxide	0,07
20	20,24	1085	trans-Linalool oxide	0,08
21	20,38	1087	Camphèn-6-one	0,02
22	20,91	1095	trans-Sabinene hydrate	0,34
23	21,2	1099	Linalool	0,72
24	21,48	1103	Octadienal (2E, 4E)	0,13
25	21,71	1106	1-Methyl-4-(1-methylpropyl)-benzene	0,02
26	22,2	1113	$\beta$ -thujone	0,04
27	22,54	1118	trans-p-mentha-2,8-dièneone	0,43
28	22,86	1122	Chrysanthenone	0,23
29	23,27	1128	Limona ketone	0,04
30	23,42	1130	cis-Limonene oxide	0,13
31	23,6	1133	cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	0,39
32	23,79	1136	trans-Limonene oxide	0,43
33	24,13	1141	Camphre	0,52
34	24,6	1147	trans-Chrysanthemal	0,14
35	24,96	1152	Citronellal	0,05
36	25,12	1155	Sabina ketone	0,13
37	25,42	1159	Pinocarvone	0,02
38	25,68	1163	Borneol	0,09
39	25,83	1165	$\delta$ -Terpinéol	0,52
40	26,59	1176	Terpinen-4-ol	0,99
41	27,72	1192	<b><math>\alpha</math>-Terpinéol*</b>	<b>2,66</b>
42	27,94	1195	Dihydro carveol	0,49
43	29,54	1218	trans-Carveol	0,68
44	30,47	1232	Nerol	0,08
45	30,68	1235	cis-Carveol	0,32
46	31,59	1248	<b>Z-citral (néral)*</b>	<b>9,74</b>
47	32,07	1255	Piperitone	0,14
48	32,34	1259	Géraninol	0,10
49	33,75	1280	<b>E-citral (géranial)*</b>	<b>11,53</b>
50	34,29	1287	E-anethole	0,09
51	34,58	1292	Cumin alcohol	0,10
52	34,8	1295	Thymol	0,10
53	35,05	1298	Perilla alcohol	0,06

54	35,38	1303	Carvacrol	0,07
55	35,68	1308	Undecenal (8Z)	0,03
56	35,86	1311	cis-pinocarvyl acetate	0,03
57	37,05	1329	p-Mentha-1,4-dien-7-ol	0,02
58	37,72	1339	2,4 Octadienol	0,14
59	38,57	1352	2-Phenyl ethyl propanoate	0,01
60	38,89	1357	Eugenol	0,10
61	39,16	1361	Decenoic acid <9->	0,09
62	40,01	1374	$\alpha$ -Ylangene	0,48
63	40,18	1377	$\alpha$ -Copaene	0,05
64	40,57	1383	$\beta$ -Bourbonene	0,32
65	40,76	1386	Geranyl acetate	0,50
66	40,95	1389	$\beta$ -Cubebene	0,02
67	41,55	1398	Jasmone (Z)	0,05
68	42,01	1405	Methyleugenol	0,18
69	42,23	1409	$\alpha$ -Cedrene	0,51
70	42,73	1417	(E)-Caryophyllene	0,62
71	43,33	1427	$\beta$ -Copaene	0,05
72	44,28	1442	Aromadendrene	0,04
73	44,81	1451	$\alpha$ -humulene	0,03
74	45,28	1459	Alloaromadendrene	0,40
75	45,97	1470	$\beta$ -acoradiene	0,13
76	46,3	1475	$\gamma$ -Gurjunene	0,09
77	46,47	1478	Geranyl n-propanoate	0,15
78	46,95	1486	<b>ar-Curcumène*</b>	<b>6,14</b>
79	47,46	1494	4-epi-Cubebo	0,22
80	47,79	1499	$\alpha$ -Muurolene	0,04
81	48,33	1509	$\beta$ -bisabolene	0,06
82	48,67	1514	Cubebol	0,62
83	49,14	1522	$\delta$ -Cadinene	0,15
84	49,7	1532	trans-Calamenene	0,07
85	49,91	1536	$\alpha$ -Cadinene	0,09
86	51,8	1568	(E)-Nerolidol	0,40
87	52,64	1583	<b>Spathulenol*</b>	<b>8,95</b>
88	52,81	1585	<b>Caryophyllene oxide*</b>	<b>3,40</b>
89	53,04	1589	Cedrol	0,35
90	53,25	1593	Bisabolatrien-7-ol <1, 3,5->	0,56
91	53,82	1603	Widdrol	0,34
92	54,1	1608	Humulene epoxide II	0,41
93	54,79	1620	Cedran-5-one	0,08
94	55,13	1627	1-epi-cubenol	0,19
95	55,9	1641	epi- $\alpha$ -cadinol	0,80
96	56,19	1646	Cedr-8(15)-en-9-alpha-ol	0,25
97	58,56	1689	Acorenone	0,22
<b>Total</b>				<b>91.69</b>

# (%) Composition : pourcentage de concentrations basé sur l'intégration de la surface du pic. <sup>†</sup> KI - Les composés ont été identifiés par comparaison avec les données de spectre de masse (MS) obtenues à partir de la bibliothèque (NIST-Wiley) et confirmées par comparaison avec l'indice de Kovats sur la colonne HP-5MS (5% Phényle, 95% dimethylpolysiloxane).\* L'intérêt a été porté arbitrairement sur les composés surlignés en gras ayant une concentration d'au moins  $\geq 1\%$ .

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles séchées d'*A.triphylla*, utilisant un hydrodistillateur type *Clevenger* a donné une huile essentielle (HE) avec un rendement de 0,5 à 0,58% (v/m). L'analyse a permis l'identification de 97 composés de l'huile, représentant 91,7% de la composition totale de l'huile.

Le profil chromatographique (Figure 162, Tableau 51) est dominé largement par les hydrocarbures monoterpéniques, représentés principalement par le D-Limonène avec 23,69%, suivi des aldéhydes terpéniques ((*E*) et (*Z*) Citral avec 11,53 et 9,74%, respectivement). Des quantités notables de sesquiterpènes sont aussi observées, à l'image du Spathuléol et ar-Curcumène, avec 8,95 et 6,14%, respectivement. Des oxydes, représentés par le 1,8-Cinéole et le Caryophyllène oxyde, sont aussi présents avec des quantités moindre.

**Tableau 52 : Composition de l'HE d'*A.triphylla* selon sa provenance.**

Rendement (%)		Algérie	Maroc	Egypte	Argentine
		[échantillon étudié]	[Jallal Z. J. 2020][353]	[Ibarhim 2014][354]	[Di Leo Lira 2014][352]
		0,5-0,58	0,19	0,4-0,5	0,2
Aldéhydes monoterpén.	Géranial (E-Citral)	11,5	10,4	13,0-15,0	17-36
	Néral (Z-Citral)	9,7	7,3	10,3-11,3	14-27
Sesquiterpènes	$\beta$ -Caryophyllène	0,6	5,2	3,7-3,9	nd
	Ar-Curcumène	6,1	3,6	3,6	2,3-2,6
	Spathulenol	8,9	1,0	nd	2,6
Monoterpènes hydrocar.	D-Limonène	23,70	23,4	15.4 -16.4	10-30
	Sabinène	1,4	2,7	nd	nd
Alcool monoterpéniques	$\alpha$ -Terpinéol	2,7	1,0	0,2	0,2
Oxydes	1,8-Cinéole	4,5	7,2	7,5-9,6	<1
	Caryophyllene oxide	3,4	1,4	2,9	11
nd- non détecté					

A la lecture de la composition qualitative et quantitative de l'HE d'*A.triphylla* de différentes provenances (Tableau 52), plusieurs remarques peuvent être faites :

- L'HE d'*A. triphylla* étudiée présente un rendement comparable à celui de l'échantillon Egyptien, mais nettement plus élevé (0,5%) que ceux des deux autres échantillons analysés de provenances Maroc (0,19%) et Argentine (0,2%) ;
- Les compositions des HEs d'*A. triphylla* de provenances Maroc, Egypte et Argentine présentent les mêmes composantes majoritaires, à savoir le D-Limonène, les (E- et Z)-Citral que notre HE [353-355]. Ces derniers sont considérés comme les plus représentatives de l'HE d'*A. triphylla*, responsable de l'odeur citronnée distinctive de l'espèce ;
- La  $\alpha$ -Thuyone est un neurotoxique identifié dans l'HE étudiée avec un très faible pourcentage (0,04%) ;
- L'HE étudiée se distingue des autres HEs par des teneurs relativement élevées en Spathulenol (3 à 9 fois supérieure) et alpha-Terpinéol ;

Les variations de la composition d'*A. triphylla* de différentes provenances géographiques s'expliqueraient principalement par le phénomène de variabilité naturelle entre les individus (chemotypes), dictée par des facteurs génétiques et géoclimatiques. Bien que d'autres raisons peuvent influencer sur la composition des HEs, telles que les conditions de culture, la période de récolte, la méthode et les modalités de la distillation, l'état frais ou séché de la matière végétale,...

Finalement l'HE d'*A. triphylla* étudiée a révélé un profil chimique caractéristique de l'espèce, à savoir une prédominance du D-limonène et E- et Z-Citral. Cependant, l'échantillon analysé montre une relative forte teneur en Spathuléol et alpha-Terpinéol. Cette particularité qui distingue notre échantillon d'HE par rapport à d'autres HEs de différentes provenances pourrait être mise en exergue comme caractère distinctif de la verveine citronnelle d'Algérie.

Le Spathuléol est un alcool sesquiterpénique tricyclique aux propriétés antioxydantes, antiinflammatoires, antiprolifératives, antibactériennes et immunomodulatrices [356, 357].

#### *Thymus capitatus*

Le tracé chromatographique et la composition de l'HE de *T. capitatus* sont décrits dans la figure 163 et le tableau 53, respectivement.

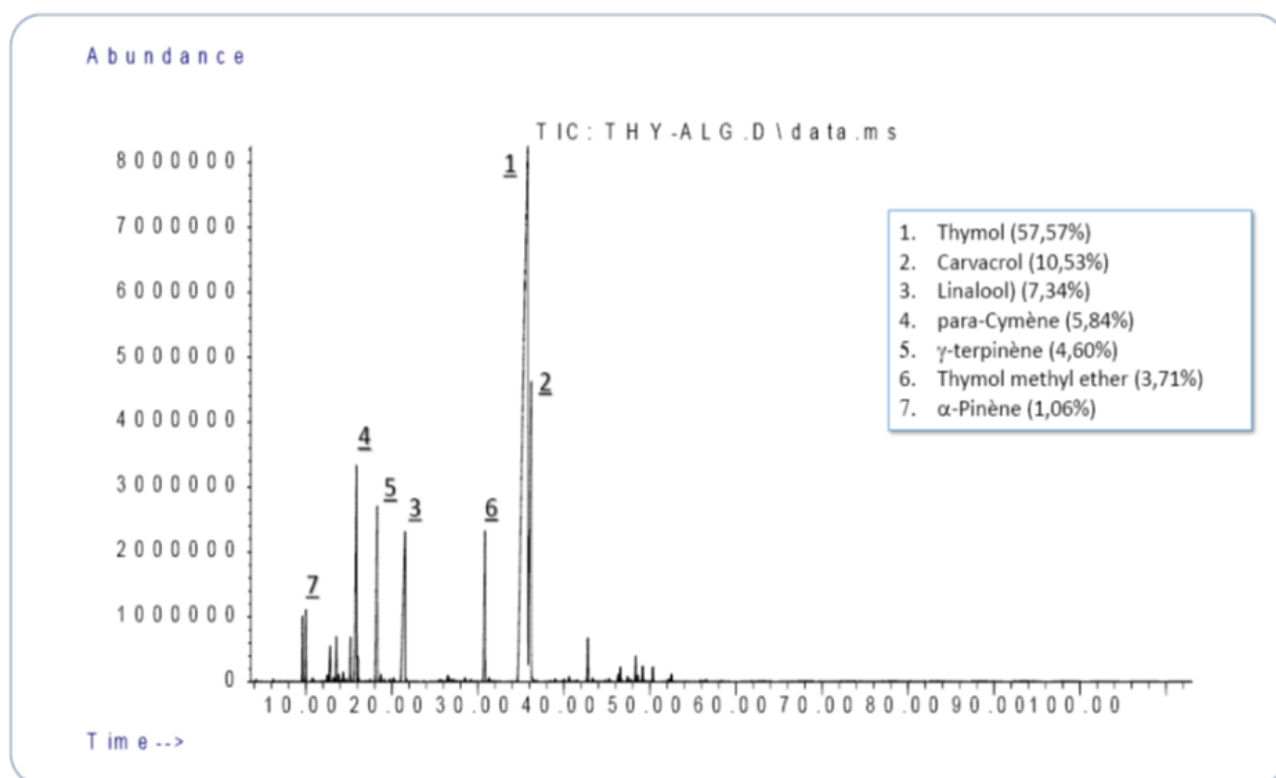


Figure 163 : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE de *Thymus capitatus*.

Tableau 53 : Composition chimique de l'HE des feuilles de *Thymus capitatus*.

N°	RT mn	KI <sup>rt</sup>	Composé	% <sup>#</sup>
1	6,19	844	trans-Hex-2-enal	0,03
2	7,5	883	Heptan-2-one	0,01
3	9,63	926	Tricyclene	0,96
4	10,14	934	<b>α-Pinene*</b>	<b>1,06</b>
5	10,84	946	Camphene	0,05
6	12,35	971	Sabinene	0,02
7	12,54	974	β-Pinene	0,11
8	12,84	979	1-Octen-3-ol	0,75
9	13,26	986	Octan-3-one	0,07
10	13,59	992	β-Myrcene	0,75
11	13,84	996	Octan-3-ol	0,12
12	14,4	1004	α-Phellandrene	0,17
13	14,72	1009	δ-3-Carene	0,05
14	15,22	1016	α-Terpinene	0,84
15	15,88	1025	<b>para- cymene*</b>	<b>5,84</b>
16	16,05	1027	β-Phellandrene	0,35
17	16,17	1029	1,8-Cineole	0,03
18	16,76	1037	(Z)-β-Ocimene	0,01
19	17,04	1041	Benzene acetaldehyde	0,02
20	17,46	1047	(E)-β-Ocimene	0,04
21	18,3	1058	<b>γ-Terpinene*</b>	<b>4,60</b>
22	18,7	1064	cis-Sabinene hydrate	0,14

23	19,12	1070	cis-Linalool oxide	0,06
24	19,77	1079	1-nonen-3-ol	0,07
25	20,2	1085	Terpinolene	0,08
26	21,56	1104	<b>Linalool*</b>	<b>7,34</b>
27	21,63	1105	Nonanal	0,04
28	23,74	1135	Trans-Pinocarveol	0,02
29	25,46	1160	Pinocarvone	0,04
30	25,65	1162	Borneol	0,06
31	26,5	1174	Terpinen-4-ol	0,18
32	27,5	1189	$\alpha$ -Terpineol	0,02
33	27,71	1192	Methyl salicylate	0,02
34	27,95	1195	Myrtenal	0,03
35	28,5	1203	$\gamma$ -Terpineol	0,10
36	29,2	1213	trans-Dihydrocarvone	0,06
37	30,84	1237	<b>Thymol, methyl ether*</b>	<b>3,71</b>
38	31,31	1244	Carvacrol, methyl ether	0,06
39	35,78	1309	<b>Thymol*</b>	<b>57,57</b>
40	36,18	1316	<b>Carvacrol*</b>	<b>10,53</b>
41	38,44	1350	$\alpha$ -Cubebene	0,017
42	38,85	1357	Thymol acetate	0,01
43	39	1359	Eugenol	0,05
44	40,05	1375	$\alpha$ -Copaene	0,04
45	41,16	1392	E-Jasmone	0,02
46	41,58	1398	Z-Jasmone	0,03
47	42,8	1418	(E)-Caryophyllene	0,85
48	43,37	1427	$\beta$ -Copaene	0,06
49	44,84	1451	$\alpha$ -Caryophyllene	0,03
50	45,25	1458	(E)- $\beta$ -Farnesene	0,06
51	46,33	1476	$\gamma$ -Muurolene	0,13
52	46,57	1480	Germacrene D	0,26
53	46,76	1483	ar-Curcumene	0,04
54	47,4	1493	4-epi-Cubebol	0,12
55	47,75	1499	$\alpha$ -Muurolene	0,04
56	48,35	1509	$\beta$ -bisabolene	0,45
57	48,57	1513	$\gamma$ -Cadinene	0,14
58	49,16	1523	$\delta$ -Cadinene	0,30
59	49,63	1531	trans-cadina-1(2),4-diene	0,02
60	49,94	1536	$\alpha$ -Cadinene	0,01
61	52,2	1575	Spathulenol	0,07
62	52,5	1580	Caryophyllene oxide	0,15
63	55,82	1639	epi- $\alpha$ -cadinol	0,04
64	56,56	1652	$\alpha$ -Cadinol	0,03
<b>Total</b>				<b>98,93</b>

# (%) Composition : pourcentage de concentrations basé sur l'intégration de la surface du pic. <sup>°</sup> KI - Les composés ont été identifiés par comparaison avec les données de spectre de masse (MS) obtenues à partir de la bibliothèque (NIST-Wiley) et confirmées par comparaison avec l'indice de Kovats sur la colonne HP-5MS (5% Phényle, 95% diméthylpolysiloxane).\* L'intérêt a été porté arbitrairement sur les composés surlignés en gras ayant une concentration d'au moins  $\geq 1\%$ .

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles séchées d'*T.capitatus*, utilisant un hydrodistillateur type *Clevenger* a donné une huile essentielle (HE) avec un rendement de 1,1 à 1,25% (v/m). L'analyse a permis l'identification de 64 composés de l'huile, représentant 98,93% de la composition totale de l'huile.

Les phénols étaient la classe prédominante, tandis que les sesquiterpènes et les autres composés étaient présents avec des quantités moindres. Les fortes proportions de Thymol et Carvacrol (57,57 et 10,53%, respectivement) trouvées dans l'HE, indiquent que la population du *T.capitatus* récoltée est du chemotype Thymol comme précédemment reporté [Goudjila et al. 2020] [358]. Ces phénols sont accompagnés par des quantités moindres en Linalool (7,34%), para-Cymène (5,84%),  $\gamma$ -Terpinène (4,60%) et Thymol methyl ether (3,71%).



Tableau 54 : Composition de l'HE de *T.capitatus* selon sa provenance.

Rendement (%)		Algérie [échantillon étudié]	Algeria [Goudjila 2020]	Italie [Goncalves 2017][359]	Tunisia [360]
		1,09	1,56	-	1,20
Phénols	Thymol	57,57	51,22	0,30	89,06
	Carvacrol	10,53	12,59	79,90	0,09
Alcool monoterpénique	Linalool	7,34	2,29	0,90	5,04
Monoterp. aromatiques	Thymol methyl ether	3,71	nd	nd	nd
	p-Cymène	5,84	nd	4,40	nd
Monoterp. Hydrocarb.	$\gamma$ -terpinene	4,60	10,30	3,70	3,19
nd- non détecté					

Sur la base de sa composition, l'HE de *T.capitatus* peut appartenir à plusieurs chemotypes (CT) selon sa provenance. Le CT Carvacrol est plus souvent signalé en Afrique du Nord [Megdiche-Ksouri 2015] [361].

#### *Origanum vulgare*

Le tracé chromatographique et la composition de l'HE d'*O.vulgare* sont décrits dans la figure 164 et le tableau 55, respectivement.

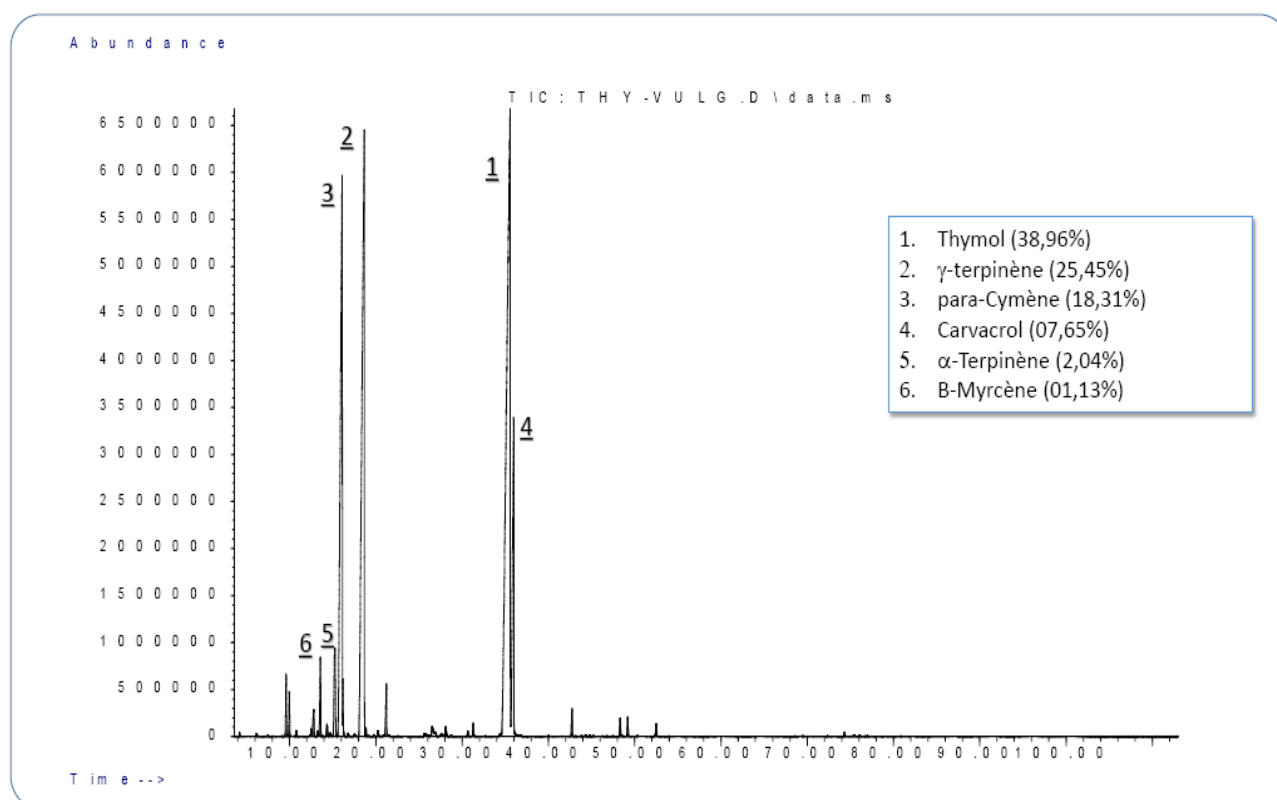


Figure 164 : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE d'*Origanum vulgare*.

Tableau 55 : Composition chimique de l'HE des feuilles d'*Origanum vulgare*.

N°	RT mn	KI <sup>a</sup>	Composé	% <sup>#</sup>
1	6,19	844	trans-Hex-2-enal	0,03
2	7,5	883	Heptan-2-one	0,01
3	9,6	925	Tricyclene	0,72
4	9,97	931	α-Pinene	0,52
5	10,81	945	Camphene	0,07
6	12,34	971	Sabinene	0,01
7	12,51	974	β-Pinene	0,10
8	12,82	979	1-Octen-3-ol	0,50
9	13,28	987	Octan-3-one	0,09
10	13,59	992	β-Myrcene*	1,13
11	13,84	996	Octan-3-ol	0,01
12	14,34	1004	α-Phellandrene	0,19
13	14,72	1009	δ-3-Carene	0,06
14	15,25	1016	α-Terpinene*	2,04
15	16,1	1028	para- cymene*	18,31
16	16,19	1029	β-Phellandrene	0,49
17	16,8	1038	(Z)-β-Ocimene	0,04
18	17,53	1048	(E)-β-Ocimene	0,05
19	18,66	1063	γ-Terpinene*	25,45
20	18,87	1066	cis-Sabinene hydrate	0,08
21	20,24	1085	Terpinolene	0,09

22	20,9	1094	trans-Sabinene hydrate	0,02
23	21,23	1099	linalool	0,78
24	25,65	1162	Borneol	0,07
25	26,53	1175	Terpinen-4-ol	0,27
26	27,53	1189	$\alpha$ -Terpineol	0,01
27	27,63	1191	Methyl salicylate	0,02
28	28,11	1198	$\gamma$ -Terpineol	0,20
29	28,74	1207	trans-Dihydrocarvone	0,01
30	30,84	1237	Thymol, methyl ether	0,06
31	31,31	1244	Carvacrol, methyl ether	0,18
32	35,78	1309	<b>Thymol*</b>	<b>38,96</b>
33	36,18	1316	<b>Carvacrol*</b>	<b>7,65</b>
34	42,8	1418	(E)-Caryophyllene	0,38
35	43,83	1435	trans- $\alpha$ -Bergamotene	0,01
36	44,82	1451	$\alpha$ -Caryophyllene	0,02
37	48,32	1508	$\beta$ -bisabolene	0,24
38	48,55	1512	$\gamma$ -Cadinene	0,01
39	49,2	1523	$\beta$ -Sesquiphellandrene	0,27
40	50,35	1543	$\beta$ -Humulene	0,01
41	52,5	1580	Caryophyllene oxide	0,19
<b>Total</b>				<b>99,39</b>

# (%) Composition : pourcentage de concentrations basé sur l'intégration de la surface du pic. <sup>°</sup> KI - Les composés ont été identifiés par comparaison avec les données de spectre de masse (MS) obtenues à partir de la bibliothèque (NIST-Wiley) et confirmées par comparaison avec l'indice de Kovats sur la colonne HP-5MS (5% Phényle, 95% diméthylpolysiloxane).\* L'intérêt a été porté arbitrairement sur les composés surlignés en gras ayant une concentration d'au moins  $\geq 1\%$ .

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles séchées d'*O.vulgare*, utilisant un hydrodistillateur type *Clevenger* a donné une huile essentielle (HE) avec un rendement de 2,8 à 3,1% (v/m). L'analyse a permis l'identification de 41 composés de l'huile, représentant 99,39% de la composition totale de l'huile.

La composition de l'HE d'*O.vulgare* étudiée est caractérisée par une forte proportion de Thymol (38,96%), suivi de  $\gamma$ -Terpinène (25,45%), para-Cymène (18,31%), Carvacrol (7,65%),  $\alpha$ -Terpinène (2,04%) et  $\beta$ -Myrcène (1,13%).

Selon plusieurs auteurs, les marqueurs volatils les plus communs dans les HE d'origan sont le Thymol, Carvacrol, p-Cymène et le  $\gamma$ -Terpinène [LaPergola et al. 2017] [362]. La proportion relative de chacune de ces molécules peut varier selon le chémotype (Bruneton 2016).

Les exemples qui suivent illustrent le polymorphisme chimique marqué de l'HE d'*O.vulgare* signalé auparavant (Tableau 56).

Tableau 56 : Composition de l'HE d'*O.vulgare* selon sa provenance

Origine		Algérie	Slovaquie	Italie		Tunisia
		[échantillon étudié]	[Grul'ova 2019][363]	[La Pergola 2017][362]	[Bejaoui 2013][364]	
		Spontanée	-	Spont.	Cultivée	Spont.
Phénols	Thymol	38,96	76,00	48,68	2,71	0,0-0,21
	Carvacrol	7,65	3,20	0,31	65,96	61,08-83,37
Monoterp.	$\gamma$ -terpinene	25,45	2,50	20,50	2,82	4,13-6,34
Hydrocarb.	<i>p</i> -cymène	18,31	5,20	5,60	4,02	3,02-9,87

Selon les données recueillies sur des populations Italiennes spontanées et cultivées d'*O.vulgare* (Tableau 56), les principaux constituants d'origan sauvage est le Thymol et le  $\gamma$ -Terpinène avec 48,7 et 20,5%, respectivement ; alors que le constituant majoritaire de l'origan cultivé est le Carvacrol avec 66,1 % [LaPergola et al. 2017]. Une autre étude sur l'HE d'*O.vulgare* de Tunisie (subsp. *glandulosum* Desf.), a montré une composition variable quantitativement selon le stade phénologique, dominée par le Carvacrol (61,08-83,37%), accompagné par du  $\gamma$ -Terpinène (4,13–6,34%) et le para-Cymène (3,02–9,87%) et d'autres constituants mineurs, dont le  $\alpha$ -Terpinène et le  $\beta$ -Myrcène où les pourcentages ne dépassent pas 0,88%. Le Thymol étant absent ou très faiblement présent dans la composition [Béjaoui et al. 2013].

La population d'*O.vulgare*, objet de notre étude, est caractérisée par une HE dont le profil contient des fortes proportions de Thymol/ $\gamma$ -Terpinène/*p*-Cymène (38,96/25,45/18,32%, respect.) et une faible quantité de Carvacrol (7,65%). Ces traits sont peu fréquents, mais typiques de l'origan commun. Ils ont déjà été signalés dans l'HE provenant de populations Algériennes d'*O.vulgare* L. ssp *glandulosum* (Desf.) Letswaart, récoltées à Sétif (lieudit *Megress*, Commune d'Ain Abassa) [Madani S. 2011] [365]. Selon cette étude, les populations du Nord et Centre d'Algérie d'*O.vulgare* ssp *glandulosum* ont montré une prédominance de quatre composants dits majeurs, le Thymol (7,7 –73,1%), le Carvacrol (7,6 –72,6%), le *p*-Cymene (1,7 –25, 8 %) et  $\gamma$ - Terpinène (1,1 –18,7%) [Madani S. 2011].

Finalement, la composition de l'HE provenant de l'échantillon d'*O.vulgare* récolté de population de la commune Ain Bouziane (wilaya de Constantine) est considérée comme typique de l'origan commun. Cependant, le contenu total en Thymol/Carvacrol de 46,7% est loin de l'exigence fixée par la Pharmacopée européenne qui est d'un minimum de 60% en Thymol/Carvacrol (Ph.Eur.,

10éd). Ceci dit, la composition de l'HE est tributaire de plusieurs facteurs comme discutés précédemment. Il serait intéressant de réaliser une étude plus vaste sur les *O.vulgare* d'Algérie pour mieux apprécier l'incidence de la variabilité naturelle sur la composition de son huile essentielle.

### ✚ *Eucalyptus globulus*

Le tracé chromatographique et la composition de l'HE d'*E.globulus* sont décrits dans la figure 165 et le tableau 57, respectivement.

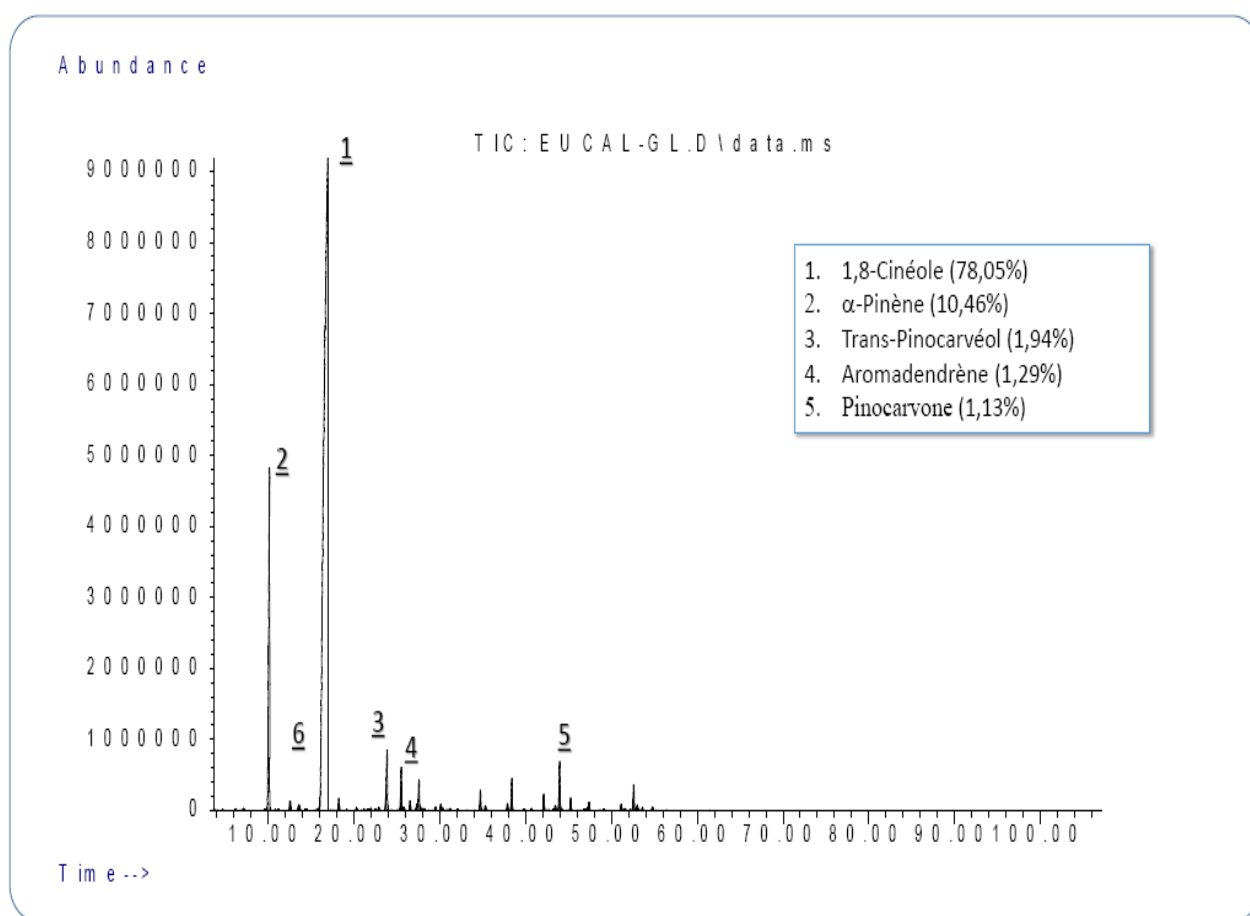


Figure 165 : Chromatogramme et principaux constituants de l'HE d'*E.globulus*.

Tableau 57 : Composition chimique de l'HE des feuilles d'*E.globulus*.

N°	RT mn	KI <sup>rt</sup>	Composé	% <sup>#</sup>
1	6,19	844	trans-Hex-2-enal	0,03
2	7,18	873	Isopentyl acetate	0,05
3	9,63	926	Tricyclene	0,03
4	10,14	934	<b><math>\alpha</math>-Pinene*</b>	<b>10,46</b>
5	10,84	946	Camphene	0,03

6	11,18	952	Thuja-2,4(10)-diene	0,01
7	12,54	974	$\beta$ -Pinene	0,25
8	13,59	992	$\beta$ -Myrcene	0,20
9	14,4	1004	$\alpha$ -Phellandrene	0,06
10	15,18	1015	(+)-4-Carene	0,01
11	15,22	1016	$\alpha$ -Terpinene	0,01
12	15,78	1024	para- cymene	0,03
13	16,96	1040	<b>1,8-Cineole*</b>	<b>78,05</b>
14	18,23	1057	$\gamma$ -Terpinene	0,24
15	19,15	1070	cis-Linalool oxide	0,02
16	20,4	1088	trans-Linalool oxide	0,01
17	21,15	1098	Linalool	0,03
18	21,62	1105	Isopentyl isovalerate	0,03
19	21,95	1109	Endo Fenchol	0,05
20	22,89	1123	$\alpha$ -Campholenal	0,07
21	23,86	1137	<b>Trans-Pinocarveol*</b>	<b>1,94</b>
22	25,51	1160	<b>Pinocarvone*</b>	<b>1,13</b>
23	25,82	1165	thujan-3-ol	0,08
24	27,33	1186	trans-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol	0,19
25	27,57	1190	$\alpha$ -Terpineol	0,79
26	27,89	1194	Myrtenol	0,06
27	29,49	1218	trans-Carveol	0,07
28	30,11	1227	cis-Carveol	0,14
29	30,68	1235	Thymol, methyl ether	0,01
30	31,18	1242	Carvone	0,04
31	32,07	1255	Geraniol	0,02
32	32,18	1257	Phenyl ethyl acetate	0,01
33	33,16	1271	Geranial	0,01
34	34,73	1294	Thymol	0,47
35	35,31	1302	Carvacrol	0,10
36	37,88	1342	exo-2-Hydroxycineole acetate	0,15
37	38,4	1350	$\alpha$ -Terpinyl acetate	0,73
38	39,46	1366	Neryl acetate	0,01
39	39,78	1371	$\alpha$ -Ylangene	0,03
40	40,69	1385	Geranyl acetate	0,39
41	42,68	1416	trans-Caryophyllene	0,01
42	43,46	1429	Calarene	0,11
43	43,97	1437	<b>Aromadendrene*</b>	<b>1,29</b>
44	45,25	1458	allo-Aromadendrene	0,28
45	47,39	1493	Ledene	0,20
46	49,11	1511	$\gamma$ -cadinene	0,02
47	52,59	1542	Selina-3,7(11)d iene	0,65
<b>Total</b>				<b>98,53</b>

# (%) Composition : pourcentage de concentrations basé sur l'intégration de la surface du pic. <sup>°</sup> KI - Les composés ont été identifiés par comparaison avec les données de spectre de masse (MS) obtenues à partir de la bibliothèque (NIST-Wiley) et confirmées par comparaison avec l'indice de Kovats sur la colonne HP-5MS (5% Phényle, 95% diméthylpolysiloxane). \*L'intérêt a été porté arbitrairement sur les composés surlignés en gras ayant une concentration d'au moins  $\geq 1\%$ .

La distillation par entrainement à la vapeur d'eau des feuilles séchées d'*E.globulus*, utilisant un hydrodistillateur type *Clevenger* a donné une huile essentielle (HE) avec un rendement de 1,7 à 1,74% (v/m). L'analyse a permis l'identification de 47 composés de l'huile, représentant 98,53% de la composition totale de l'huile.

La composition de l'HE d'*E.globulus* étudiée est caractérisée par une forte proportion de 1,8-Cinéol ou Eucalyptol (78,05%), accompagné de relativement faibles quantités d' $\alpha$ -Pinène (10,46%), du *trans*-Pinocarvéol (1,94%), l'Aromadendrène (1,29%), et du Pinocarvone (1,13%).

Ce profil typique de l'HE d'*E.globulus* dominé par le 1,8-cinéol est partagé par de nombreuses huiles récoltées dans différentes régions d'Algérie (Tableau 58). Cependant, l'HE de provenance de l'Ouest Algérien, de la région de Saida, a montré un profil atypique avec le p-Cymène comme produit prédominant accompagné d'une quantité anormalement faible de 1,8-Cinéole [368].

**Tableau 58 : Composition de l'HE d'*E.globulus* de différentes régions d'Algérie**

	Skikda [échantillon étudié]	Aïn Defla [Boukhatem 2014][366]	Constantine [Benayache 2011][367]	Saïda [Benabdess. 2020][368]
- $\beta$ -Thujene	nd	nd	nd	3,40
- $\alpha$ -Pinène	<b>10,46</b>	<b>24,60</b>	<b>08,80</b>	1,16
- $\alpha$ -Phellandrène	0,06	nd	nd	5,10
- p-Cymène	0,03	nd	nd	<b>20,24</b>
- 1,8-Cinéole	<b>78,05</b>	<b>51,08</b>	<b>71,30</b>	<b>11,30</b>
- $\gamma$ -Terpinène	0,24	nd	nd	2,16
- Trans-pinocarvone	1,94	9,99	3,30	nd
- Pinocarvone	1,13	nd	0,70	nd
- Globulol	nd	2,82	1,60	nd
- Terpinen-4-ol	nd	0,18	0,30	3,70
- Cryptone	nd	nd	nd	5,02
- Aromadendrène	1,29	nd	1,50	nd

nd- non détecté



D'autres études faites sur des *E.globulus* originaires d'autres pays, telles que le Brésil et l'Australie, ont révélé divers profils chromatographiques avec des forts pourcentages en 1,8-Cinéole, en moyenne de 85 et 90 %, respectivement [Chagas 2002, Yang 2004] [369, 370]. En revanche, des analyses d'échantillons d'huile d'eucalyptus du Maroc et du Kenya ont donné un faible pourcentage en 1,8-Cinéole, avec une moyenne de 22,4 et 17,22%, respectivement [Derwiche 2009] [371, 372].

Pour conclure, l'HE étudiée fait partie du chemotype 1,8-Cinéole, caractérisée par sa richesse en 1,8-Cinéole, comme précédemment décrit [Bruneton 2016]. L'existence de variation dans la composition de l'HE d'*E.globulus* dénote de l'existence de différents chémotypes [Barbosa 2016] [373].

### VII.3. ESSAIS BIOLOGIQUES

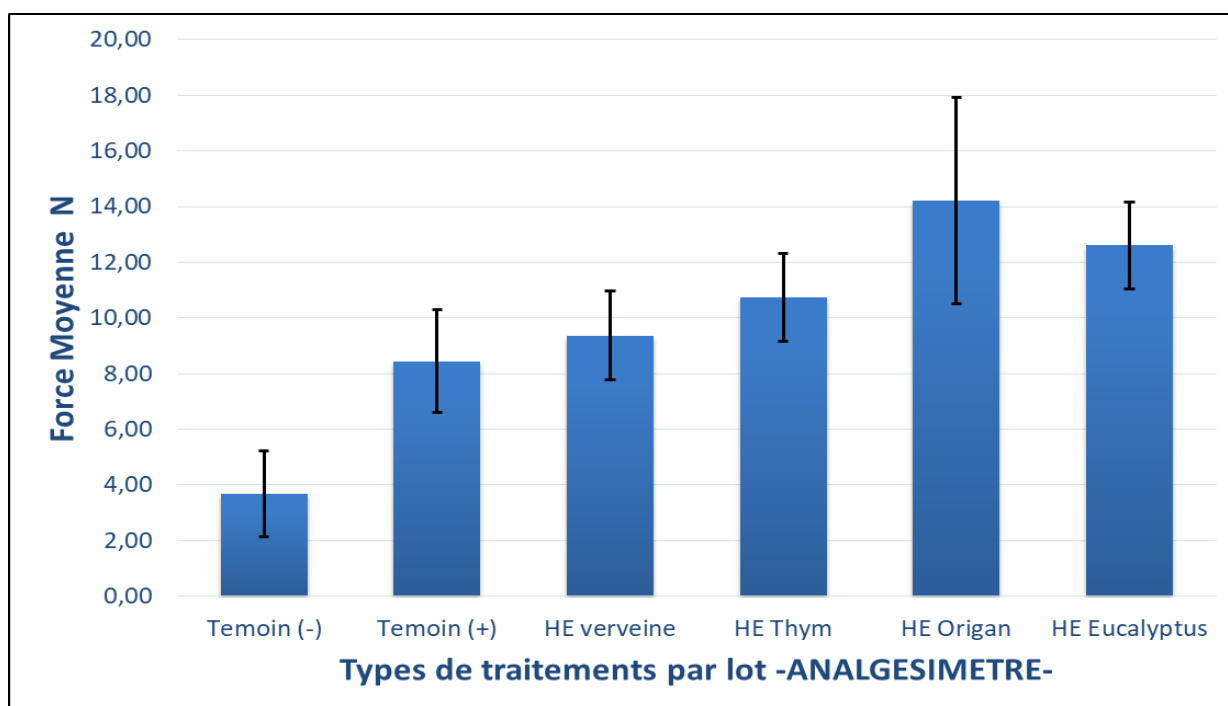
#### VII.3.1. TESTS « *IN VIVO* »

##### VII.3.1.1. Activité analgésique

Les résultats du test du coup de queue (*Tail flick test*) d'analgésimètre sont montrés dans le tableau 59, et la figure 166.

**Tableau 59 : Force moyenne (N) mesurée à l'aide de l'Analgésimètre**

	Moyenne	Ecart type
<b>Temoin (-)</b>	3,67	1,55
<b>Temoin (+)</b>	8,44	1,85
<b>HE de verveine</b>	9,37	1,59
<b>HE de Thym</b>	10,74	1,58
<b>HE d'Origan</b>	14,21	3,70
<b>HE d'Eucalyptus</b>	12,61	1,56



**Figure 166 : Force moyenne (N) mesurée à l'Analgésimètre**

- *Comparaisons par rapport au temoin negatif*

Une comparaison statistique des résultats a été entreprise afin de valider l'essai et ensuite démontrer l'activité analgésique des différentes HEs. Pour cela, un test de Student bilatéral a été réalisé à l'aide du logiciel IBM SPSS statistics version 21. Le seuil de signification statistique du test-t de Student a été fixé à une  $p\text{-value} \leq 0,05$ . Les résultats sont présentés dans le tableau 60.

**Tableau 60 : Résultats d'étude comparative de l'activité analgésique par le test Student**

<b>Lots</b>	<b>P-value</b>
<b>Témoin négatif / AAS</b>	2,105E-04
<b>Témoin négatif / HE verveine</b>	1,908E-05
<b>Témoin négatif / HE thym</b>	2,122E-06
<b>Témoin négatif / HE origan</b>	1,138E-04
<b>Témoin négatif / HE eucalyptus</b>	1,605E-07

- *Comparaisons multiples*

Des comparaisons multiples des moyennes ont été faites au moyen de tests de Tukey à l'aide du logiciel SPSS version 21. Les résultats sont présentés dans le tableau 61.

**Tableau 61: Étude comparative multiple de l'activité analgésique par le test de Tukey**

<b>Etudes comparatives</b>		<b>p-value</b>
<b>Témoin (-)</b>	Temoin (+)	0,002
	HE de verveine	1,84E-04
	HE de Thym	4,64E-06
	HE d'Origan	5,91E-10
	HE d'Eucalyptus	3,28E-08
<b>Témoin (+)</b>	Temoin (-)	0,002
	HE de verveine	0,962
	HE de Thym	0,345
	HE d'Origan	1,52E-04
	HE d'Eucalyptus	0,009
<b>HE de verveine</b>	Temoin (-)	1,84E-04
	Temoin (+)	0,962
	HE de Thym	0,828
	HE d'Origan	0,002
	HE d'Eucalyptus	0,070
<b>HE de Thym</b>	Temoin (-)	4,64E-06
	Temoin (+)	0,345
	HE de verveine	0,828
	HE d'Origan	0,044
	HE d'Eucalyptus	0,570
<b>HE d'Origan</b>	Temoin (-)	5,91E-10
	Temoin (+)	1,52E-04
	HE de verveine	0,002
	HE de Thym	0,044
	HE d'Eucalyptus	0,719
<b>HE d'Eucalyptus</b>	Temoin (-)	3,28E-08
	Temoin (+)	0,009
	HE de verveine	0,070
	HE de Thym	0,570
	HE d'Origan	0,719

La comparaison multiple a permis de regrouper les différentes HEs en sous-ensembles en se basant sur les valeurs de  $P$  du test de Tukey. Les résultats sont présentés dans le tableau 62.

**Tableau 62 : Classification en sous-ensembles en se basant sur les résultats de la comparaison multiple de l'activité analgésique par le test de Tukey**

	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
<b>Temoin (-)</b>	7	3,6714			
<b>Temoin (+)</b>	7		8,4429		
<b>HE de verveine</b>	7		9,3714	9,3714	
<b>HE de Thym</b>	7		10,7429	10,7429	
<b>HE d'Eucalyptus</b>	7			12,6143	12,6143
<b>HE d'Origan</b>	7				14,2143
P-value		1,000	0,345	0,070	0,719

- Le résultat de la comparaison des témoins (-) et (+) a montré une différence statistiquement significative des deux groupes ( $p\text{-value} = 2,105\text{E-}04$ ) ce qui permet de valider l'essai.
- La comparaison des différentes HEs testées par rapport au témoin (-) a montré une différence statistiquement significative ( $p\text{-value} \leq 0,05$ ) (Tableau 60). Ce résultat indique une activité analgésique supérieure pour toutes les HEs par rapport à celle du témoin (-).
- Les données résument donc que les forces moyennes enregistrées pour les 4 HEs et l'AAS sont significativement ( $P \leq 0,05$ ) plus importantes que celui du témoin (-) (Tableau 59, Figure 166). C'est-à-dire. que les doses d'HEs et d'AAS utilisées ont produit des effets analgésiques supérieurs par rapport au témoin ne recevant aucun traitement.
- La comparaison multiple (Tableaux 61, et 62) n'a indiqué aucune différence entre l'activité analgésique de l'HE de verveine, de Thym et celle du témoin (+). Par contre, les activités analgésiques des HEs d'Origan et d'Eucalyptus étaient statistiquement égales et les deux supérieures à celle du témoin (+).

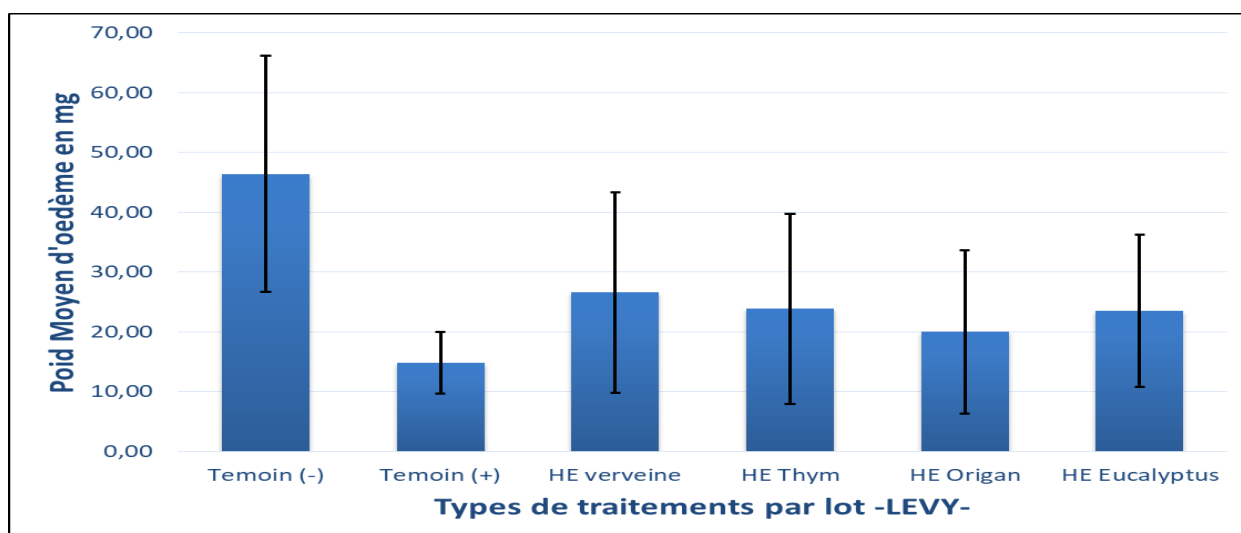
### VII.3.1.2. Activité anti-inflammatoire

#### ✓ Protocol de *Levy*

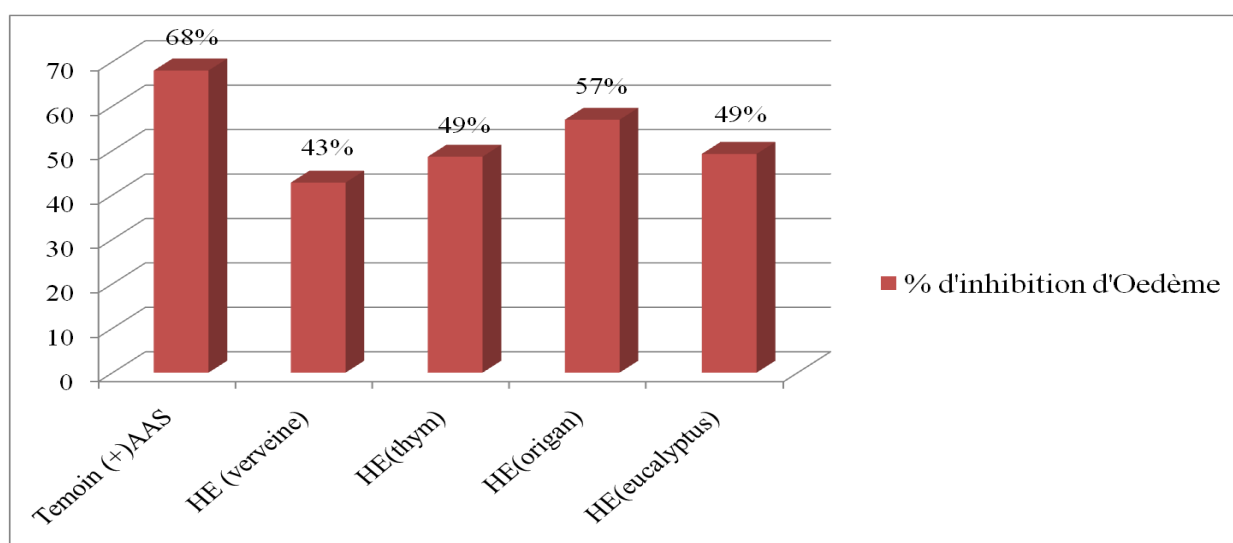
Les résultats du test de *Levy* sont exposés dans le tableau 63 et les figures 167, 168.

**Tableau 63 : Poids moyen d'œdèmes en mg mesurés selon le protocole de *Levy***

	Moyenne	Ecart type
Temoin (-)	46,43	19,73
Temoin (+)	14,86	5,18
HE de verveine	26,57	16,72
HE de Thym	23,86	15,89
HE d'Origan	20,00	13,65
HE d'Eucalyptus	23,57	12,74



**Figure 167 : Poids moyen d'œdèmes en mg mesurés selon le Protocol de *Levy***



**Figure 168 : Pourcentages d'inhibition d'œdèmes selon le Protocol de *Levy***

- *Comparaisons par rapport au témoin négatif*

Une comparaison statistique des résultats a été entreprise afin de valider l'essai et ensuite démontrer l'activité anti-inflammatoire des différentes HEs. Pour cela, un test de Student bilatéral a été réalisé à l'aide du logiciel SPSS 21. Le seuil de signification statistique du test-t de Student a été fixé à une  $p\text{-value} \leq 0,05$ . Les résultats sont présentés dans le tableau 64.

**Tableau 64 : Résultats d'étude comparative de l'activité anti-inflammatoire par le test-t de Student (Protocol de Levy)**

Lots	P-value
Témoin négatif / AAS	0,001
Témoin négatif / HE verveine	0,065
Témoin négatif / HE thym	0,036
Témoin négatif / HE origan	0,013
Témoin négatif / HE eucalyptus	0,024

Selon les données obtenues, et à l'exception du lot de souris traitées par l'HE d'*A.triphylla*, les lots de souris recevant de l'AAS ou les HEs d'*O.vulgare*, d'*E.globulus* et de *T. capitatus* ont montré une réduction significative des poids d'œdèmes par rapport au lot témoin (-) (Figures 167,168, Tableau 64).

En calculant et comparant les pourcentages d'inhibitions d'œdèmes, on remarque que l'HE d'origan a présenté un effet anti-oedémateux très intéressant avec un pourcentage de 57%, très proche de celui observé avec l'AAS (68%) ; suivie par les HEs du thym et d'eucalyptus avec un pourcentage de 49% ; et au contraire, l'HE de la verveine présente l'effet le plus minime avec un taux de 43%.

- *Comparaisons multiples*

Des comparaisons multiples des moyennes ont été faites au moyen de test de Tukey à l'aide du logiciel IBM SPSS 21. Les résultats sont présentés dans le tableau 65.

**Tableau 65 : Étude comparative multiple de l'activité antiinflammatoire par le test de Tukey (Protocole de Levy)**

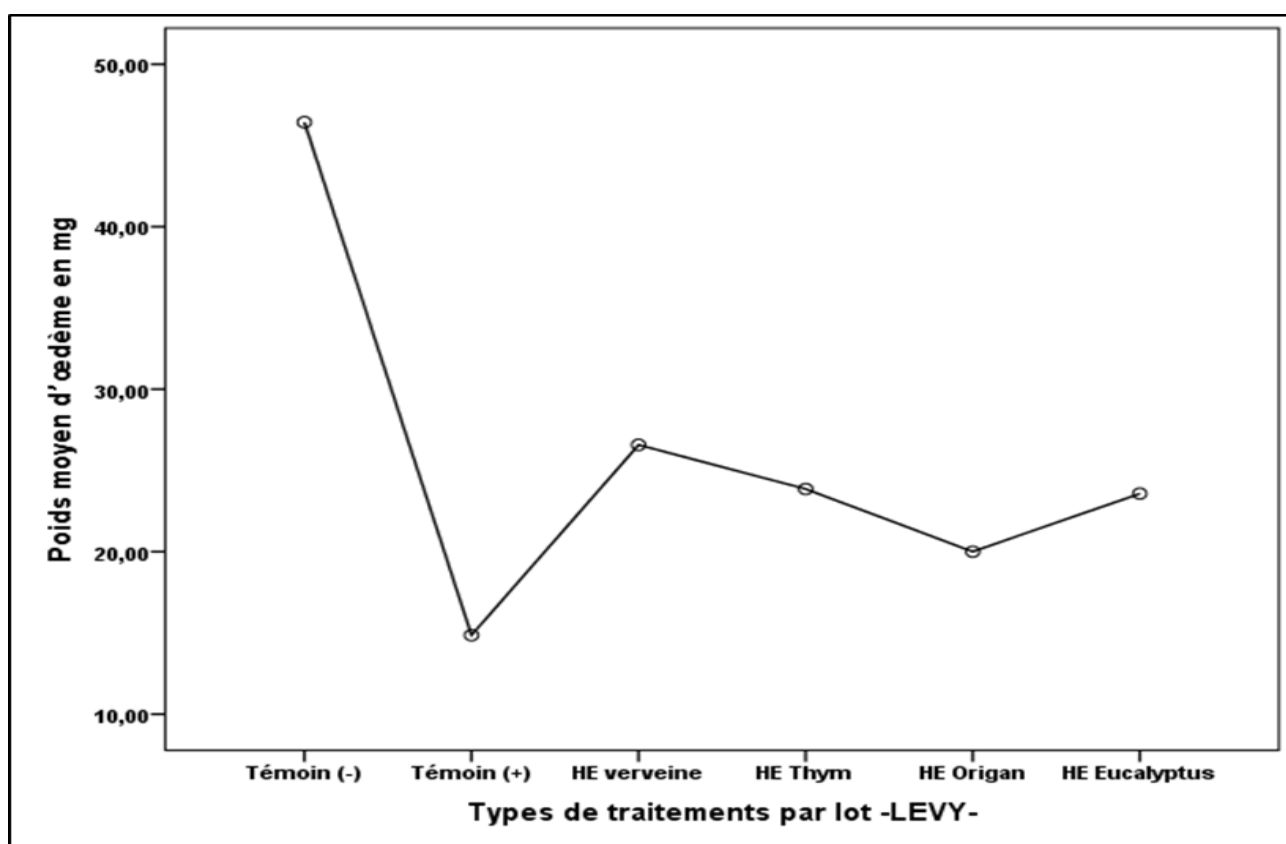
Études comparatives		p-value
<b>Temoin (-)</b>	Temoin (+)	0,004
	HE de verveine	0,143
	HE de Thym	0,068
	HE d'Origan	0,021
	HE d'Eucalyptus	0,063
<b>Temoin (+)</b>	Temoin (-)	0,004
	HE de verveine	0,672
	HE de Thym	0,859
	HE d'Origan	0,986
	HE d'Eucalyptus	0,874
<b>HE de Verveine</b>	Temoin (-)	0,143
	Temoin (+)	0,672
	HE de Thym	0,999
	HE d'Origan	0,959
	HE d'Eucalyptus	0,999
<b>HE de Thym</b>	Temoin (-)	0,068
	Temoin (+)	0,859
	HE de verveine	0,999
	HE d'Origan	0,996
	HE d'Eucalyptus	1,000
<b>HE d'Origan</b>	Temoin (-)	0,021
	Temoin (+)	0,986
	HE de verveine	0,959
	HE de Thym	0,996
	HE d'Eucalyptus	0,997
<b>HE d'Eucalyptus</b>	Temoin (-)	0,063
	Temoin (+)	0,874
	HE de verveine	0,999
	HE de Thym	1,000
	HE d'Origan	0,997

La comparaison multiple a permis de regrouper les différentes HEs en sous-ensembles, en se basant sur les valeurs de  $P$  du test de Tukey. Les résultats sont présentés dans le tableau 66 et la figure 169.



**Tableau 66 : Classification en sous-ensembles en se basant sur les résultats de la comparaison multiple de l'activité anti-inflammatoire par le test de Tukey**

	N	Sous-ensemble pour alpha = 0,05	
		1	2
<b>Temoin (+)</b>	7	14,86	
<b>HE d'Origan</b>	7	20,00	
<b>HE d'Eucalyptus</b>	7	23,57	23,57
<b>HE de Thym</b>	7	23,86	23,86
<b>HE de Verveine</b>	7	26,57	26,57
<b>Temoin (-)</b>	7		46,43
<b><i>P-value</i></b>		0,67	0,06



**Figure 169 : Étude comparative multiple de l'activité anti-inflammatoire par le test de Tukey (Protocol de Levy)**

- Le résultat de la comparaison des témoins (-) et (+) a montré une différence statistiquement significative des deux groupes ( $p\text{-value} = 0,001$ ) ce qui permet de valider l'essai.
- La comparaison des différentes HEs testées par rapport au témoin (-) a montré une différence statistiquement significative ( $p\text{-value} \leq 0,05$ ) de toutes les HEs à l'exception de celle de la verveine ( $p\text{-value} = 0,065$ ). Ce résultat indique une activité anti-inflammatoire supérieure statistiquement validée pour toutes les HEs par rapport à celle du témoin (-) sauf celle de la

verveine. Par contre, les résultats de la comparaison multiple montrent que seule l'HE d'origan présente une activité anti-inflammatoire statistiquement significative par rapport à celle du témoin (-) et égale à celle du témoin (+).

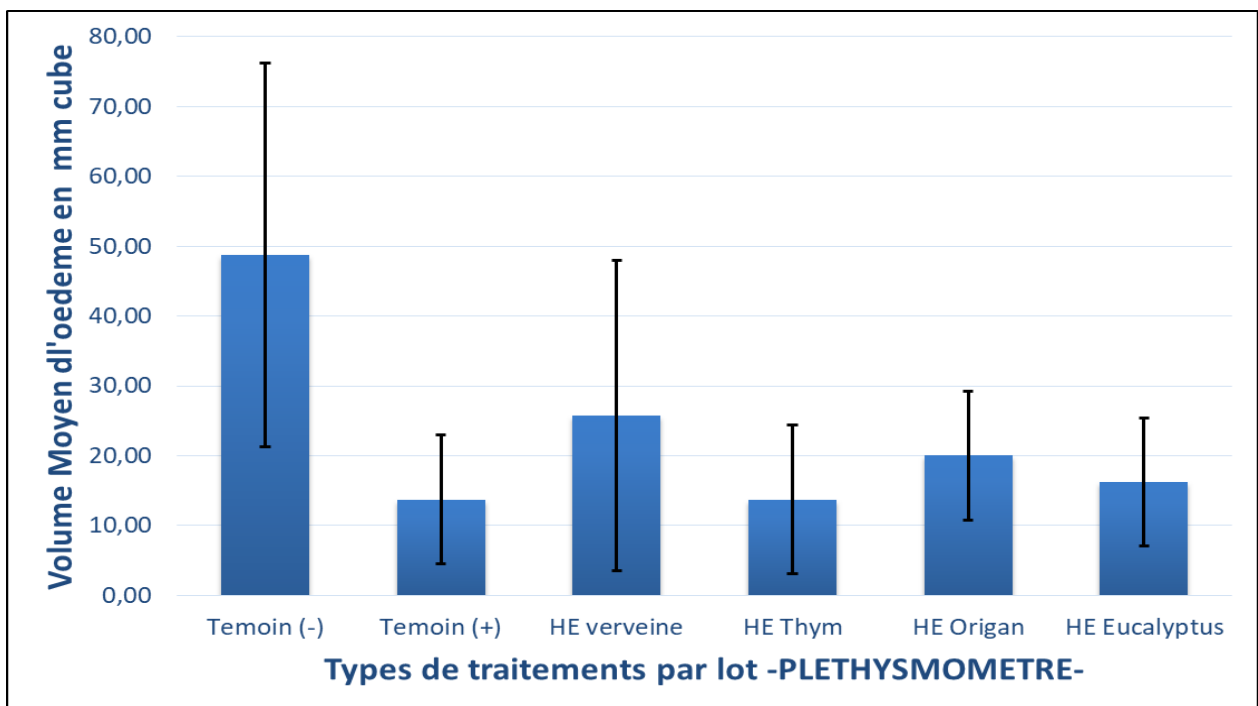
- En comparant ces 3 HEs, on a trouvé que la valeur du pourcentage d'inhibition la plus élevée a été obtenue par l'HE d'*O.vulgare*, suivie de celles d'*E.globulus* et de *T.capitatus*, et en dernier celle d'*A.triphylla*. Toutefois aucune différence significative n'a été notée, d'une part entre l'AAS et les HEs, et d'autre part, entre les trois HEs elles-même (Tableau 65).

### ✓ Pléthysmomètre

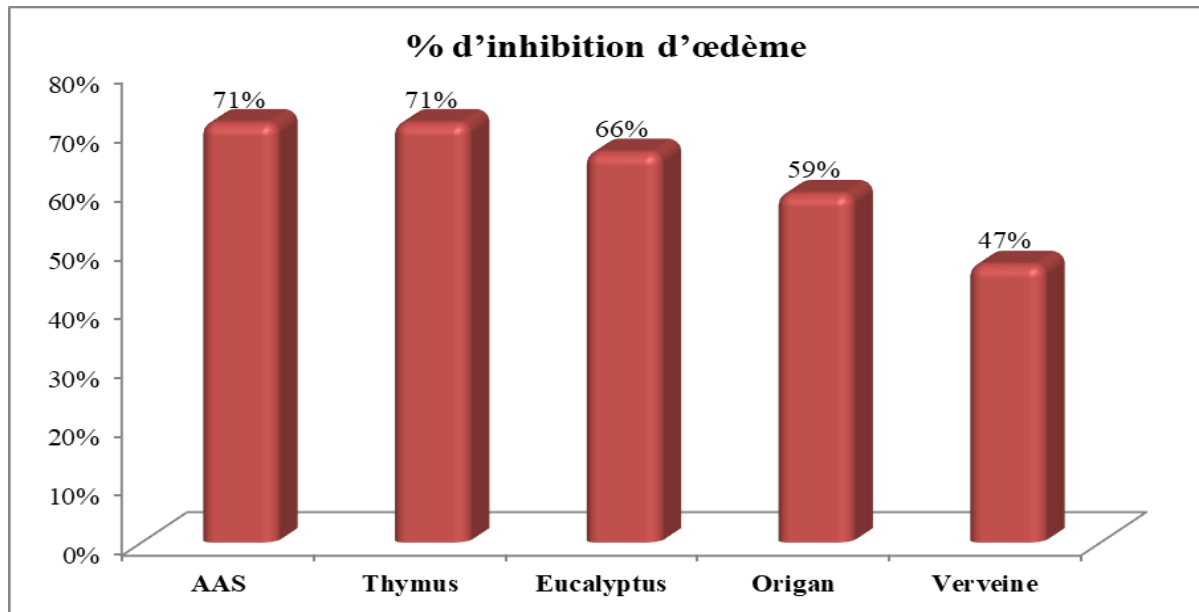
Les résultats de la technique de Pléthysmomètre sont exposés dans le tableau 67 et les figures 170, 171.

**Tableau 67 : Volumes moyens d'œdèmes en millimètre cube mesurés par Pléthysmomètre**

	Moyenne	Ecart type
<b>Temoin (-)</b>	48,75	27,48
<b>Temoin (+)</b>	13,75	9,16
<b>HE de Verveine</b>	25,71	22,25
<b>HE de Thym</b>	13,75	10,61
<b>HE d'Origan</b>	20,00	9,26
<b>HE d'Eucalyptus</b>	16,25	9,16



**Figure 170 : Volumes moyens d'œdèmes en millimètre cube mesurés par Pléthysmomètre**



**Figure 171 : Pourcentages d'inhibitions d'œdème selon la technique de Pléthysmomètre**

- *Comparaisons par rapport au témoin négatif*

Une comparaison statistique des résultats a été entreprise afin de valider l'essai et ensuite démontrer l'activité anti-inflammatoire des différents extraits d'HEs étudiés. Pour cela, un test Z de Kolmogorov-Smirnov a été réalisé à l'aide du logiciel SPSS 21. Le seuil de signification statistique a été fixé à une  $p\text{-value} \leq 0,05$ , et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 68.

**Tableau 68 : Résultats d'étude comparative de l'activité anti-inflammatoire mesuré par le test Z de Kolmogorov-Smirnov (Pléthysmomètre)**

Lots	P-value
Témoin négatif / AAS	0,022
Témoin négatif / HE verveine	0,351
Témoin négatif / HE thym	0,088
Témoin négatif / HE origan	0,088
Témoin négatif / HE eucalyptus	0,088

Selon les données obtenues, et à l'exception du lot de souris traitées par l'AAS, les autres lots recevant les HEs n'ont pas montré une réduction significative des volumes d'œdèmes par rapport au lot témoin (-) (Tableau 68). Toutefois en valeur moyenne, on constate que l'HE du *T.capitatus* a un effet comparable à celui observé avec l'AAS pour un pourcentage de 71%, suivie par l'HE d'*E.globulus* à 66% et d'*O.vulgare* à 59%. L'effet le plus faible est celui enregistré par l'HE d'*A.triphylla*, avec seulement 47% (Figure 171).

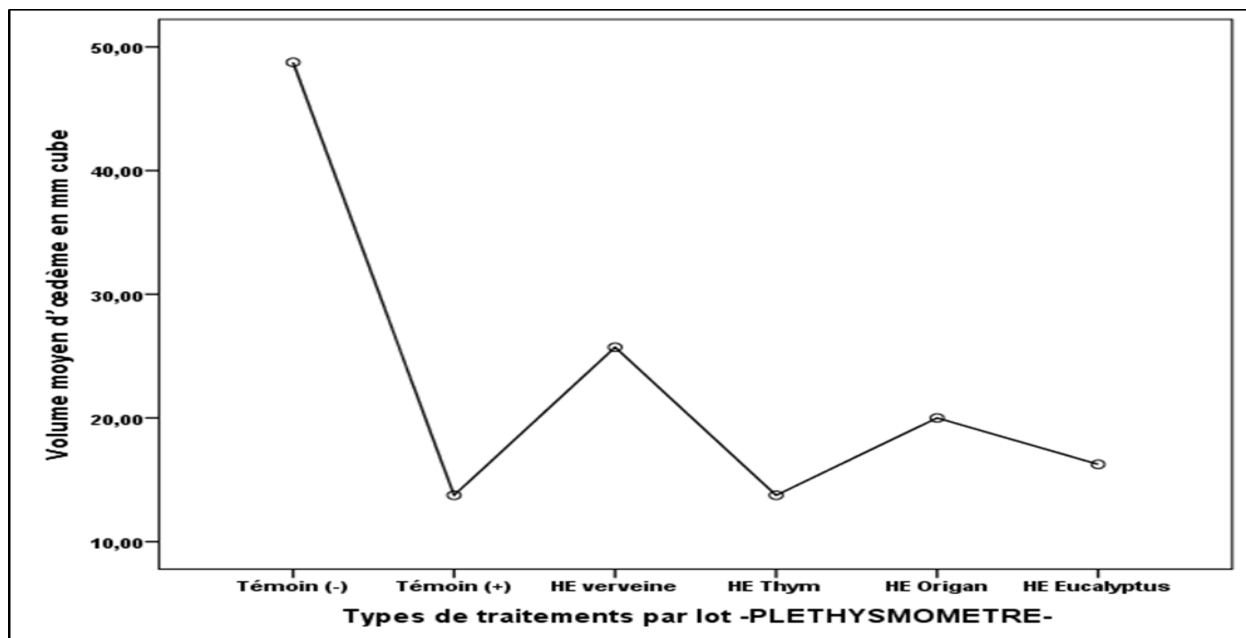
- *Comparaisons multiples*

Des comparaisons multiples des moyennes ont été faites au moyen de test de Kruskal-Wallis à l'aide du logiciel SPSS 21. Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 69.

**Tableau 69 : Étude comparative multiple de l'activité anti-inflamatoire selon la technique de Pléthysmomètre par le test de Kruskal-Wallis**

Test 1 (Lot T- vs Lot T+ et Lots tests)	
	VAR00002
Khi-deux	12,240
ddl	5
Signification asymptotique	0,032

Test 2 (Lot T+ vs les Lots tests)	
	VAR00002
Khi-deux	3,321
ddl	4
Signification asymptotique	0,506



**Figure 172 : Étude comparative multiple de l'activité antiinflammatoire Selon la technique de Pléthysmomètre par le test de Kruskal-Wallis**

- Le résultat de la comparaison des témoins (-) et (+) a montré une différence statistiquement significative des deux groupes ( $p\text{-value} = 0,022$ ) ce qui permet de valider l'essai.
- Selon la technique de Pléthysmomètre, le volume moyen d'œdème pour chaque HE testé été largement inférieur au volume moyen noté avec le témoin (-) et assez proche du volume moyen marqué avec le témoin (+), mais la comparaison des différentes HEs testées par rapport au témoin (-) (Tableau 68) n'a pas montré une différence statistiquement significative ( $p\text{-value} > 0,05$ ) de toutes les HEs. Ce résultat indique donc que l'activité anti-inflammatoire de l'ensemble d'extraits d'HEs n'est pas différente de celle du témoin (-). Par contre, les résultats

de la comparaison multiple montrent qu'il n'y a pas de différence entre l'activité des HEs et le témoin (+).

Des études ont mis en évidence que les constituants présents dans certaines huiles essentielles peuvent exhiber des activités de type analgésique et antiinflammatoire sur des modèles expérimentaux [374, 375, 376].

Dans notre étude, le prétraitement avec les HEs a produit une inhibition significative de la douleur comparable à celle induite par l'AAS, suggérant que l'antinociception démontré avec le test du coup de queue (*Tail flick test*) des souris se situe probablement au niveau de la moelle épinière [Da Silveira 2017].

La capacité antioedémateuse des HEs d'*O.vulgare*, d'*E.globulus* et de *T.capitatus* a été démontrée, en utilisant le test de *Levy*. Toutefois, l'effet anti-inflammatoire produit par ces HEs n'était pas concluant par la technique du Pléthysmomètre.

Les effets analgésique et antiinflammatoire étaient plus évident dans le cas des HEs d'*O.vulgare*, de *T.capitatus* et d'*E.globulus*. La composition de ces huiles est caractérisée par la présence notable de thymol/carvacrol (pour les 2 Lamiacées) et 1,8-cinéole pour l'espèce de Myrtacées.

Le thymol/carvacrol présente diverses propriétés biologiques, notamment des effets antinociceptifs et inhibeurs de la réponse inflammatoire [377, 378].

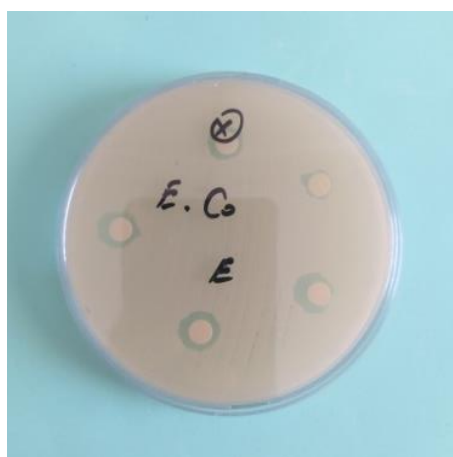
Le 1,8-cinéole retrouvé en grande quantité dans l'HE d'*E.globulus*, présente un effet inhibiteur sur certains types d'inflammation expérimentale chez le rat, dont l'œdème de la patte induit par le carraghénane. Le cinéole inhibe également chez la souris les stimuli chimiques nociceptifs induits par le formol et l'acide acétique [379].

Plusieurs auteurs partagent le fait que les effets biologiques (cas des effets antinociceptif et antiinflammatoire) des huiles essentielles est dû à leurs principaux constituants et qu'une synergie entre ces constituants chimiques est possible.

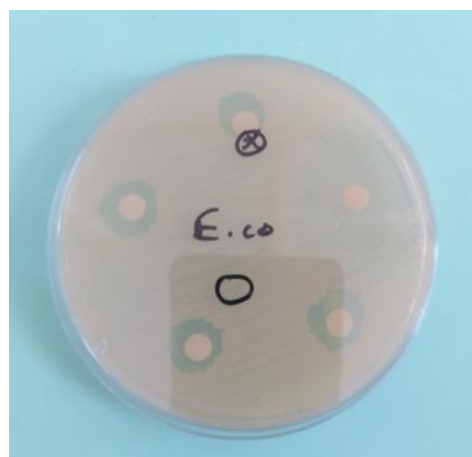
Selon notre point de vue, la diversité structurale des constituants bioactifs présents dans nos HEs ne permet pas d'établir l'identité des actifs responsables des actions antinociceptive et anti-inflammatoire. Des études avancées sur les mécanismes d'action de ces constituants purs, avec l'approche de la chimie médicinale computationnelle, peut être un moyen plus efficace de comprendre l'exigence chimique pour ces activités pharmacologiques.

VII.3.2. TESTS « *IN VITRO* »VII.3.2.1. **Activité antimicrobienne**

Les résultats d'évaluation de l'activité antimicrobienne des HEs étudiées sur quelques germes sélectionnés pour cet essai biologique sont visualisés dans les figures 173, 174.



*Eucalyptus globulus.*



*Origanum vulgare.*



*Thymus capitatus.*

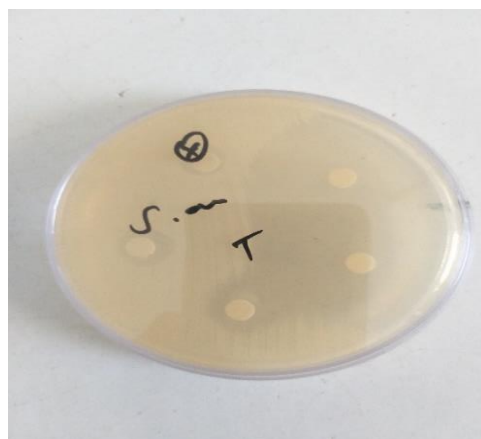


*Aloysia triphylla.*

**Figure 173 : Résultats d'aromatogrammes pour la souche d'*E.coli.* (SH)**



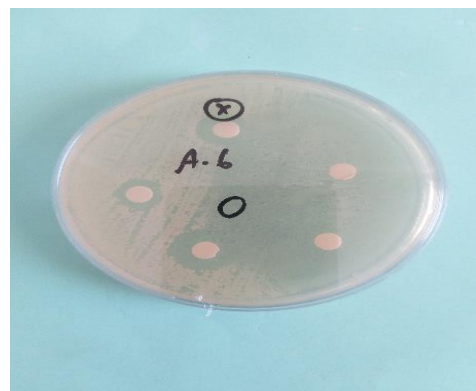
*O.vulgare. / C.albicans.*



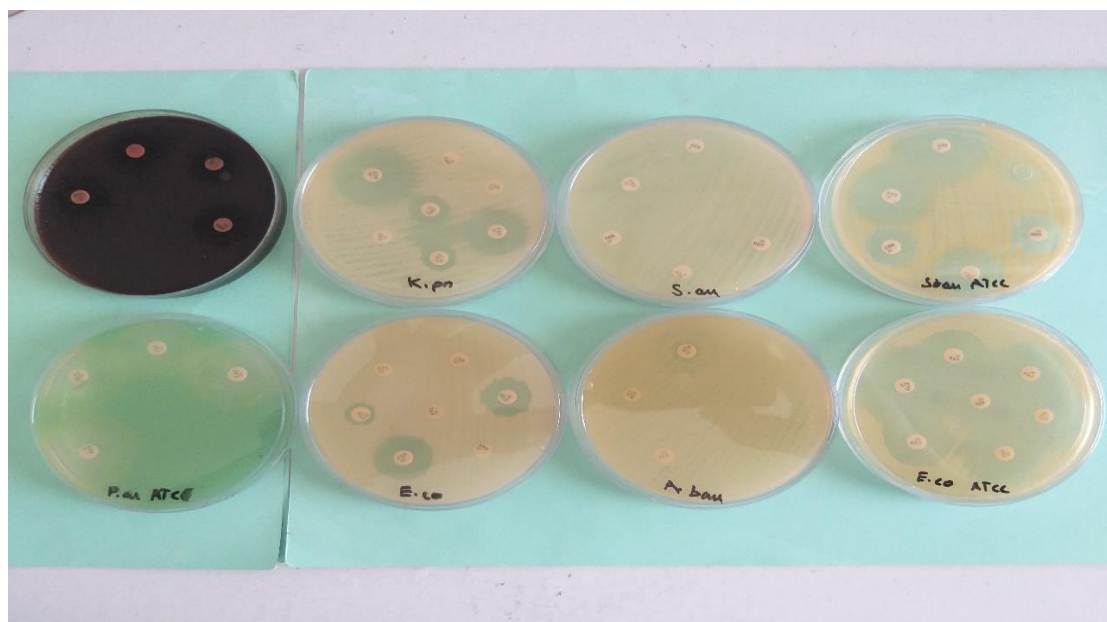
*T.capitatus. / S.aureus.*



*T.capitatus. / C.albicans.*



*O.vulgare. / A.baumannii.*

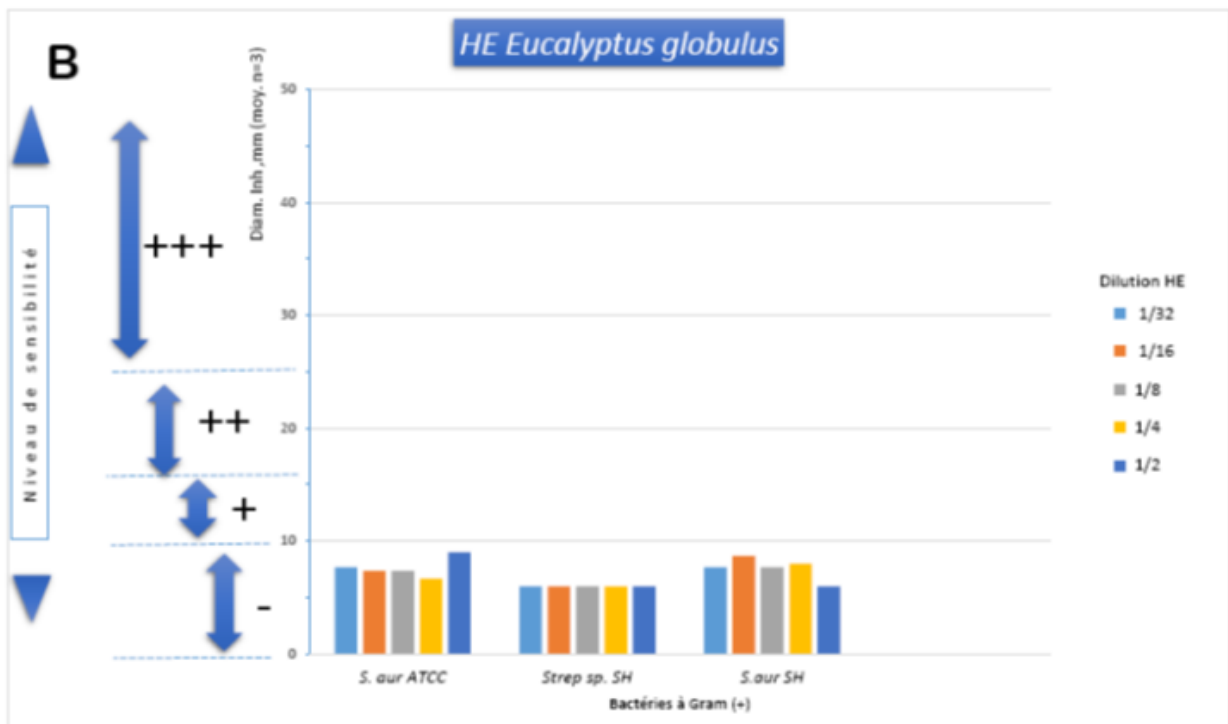
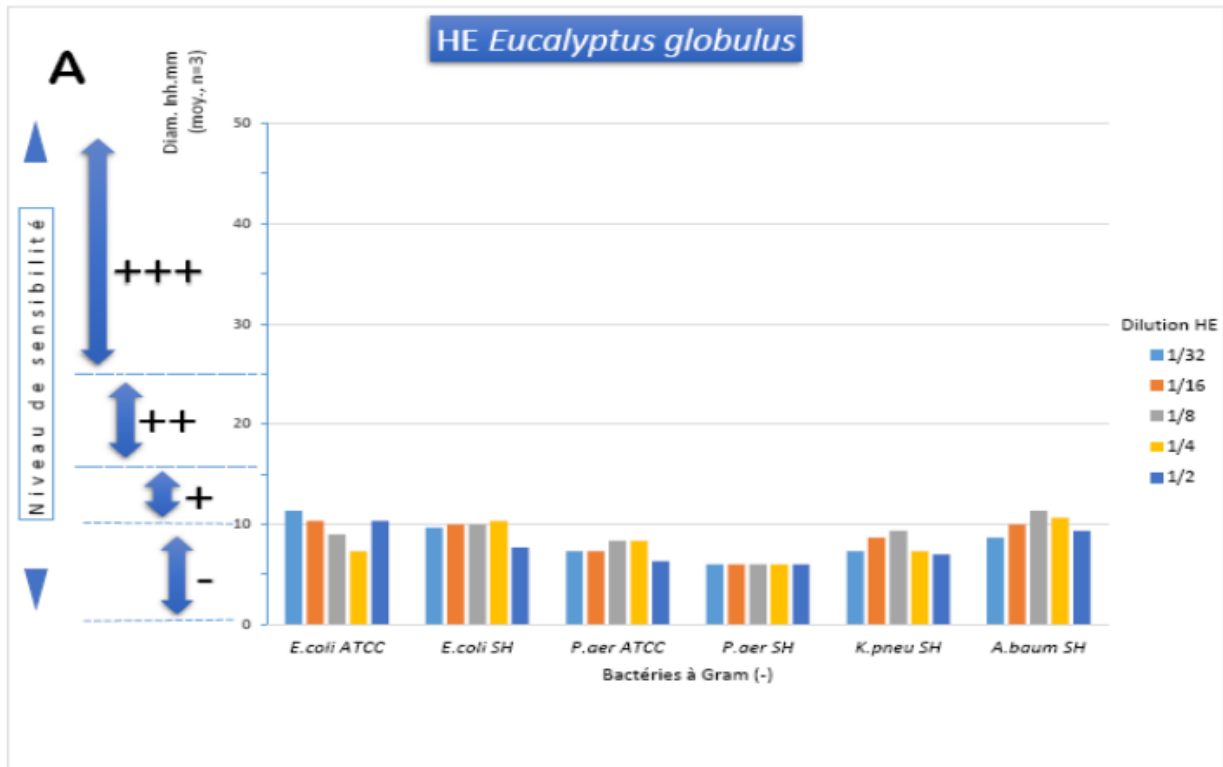


ANTIBIOGRAMMES TEMOINS

Figure 174 : Résultats d'aromatogrammes pour quelques germes testés et d'antibiogrammes témoins

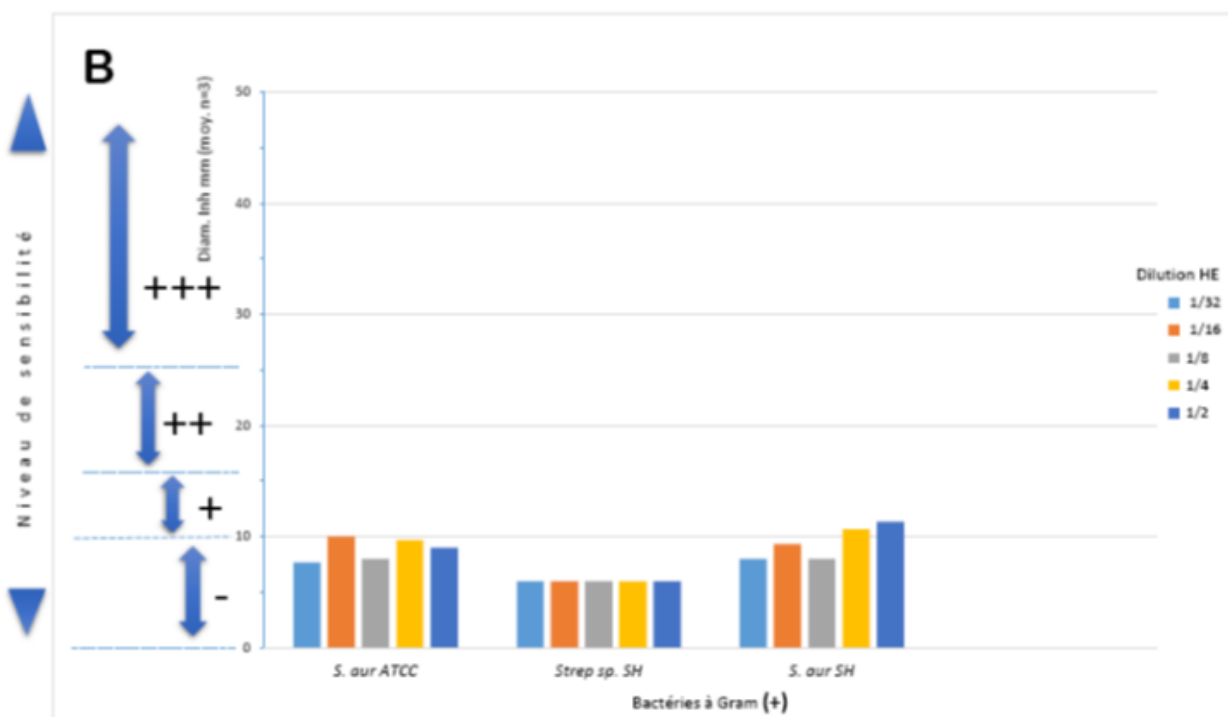
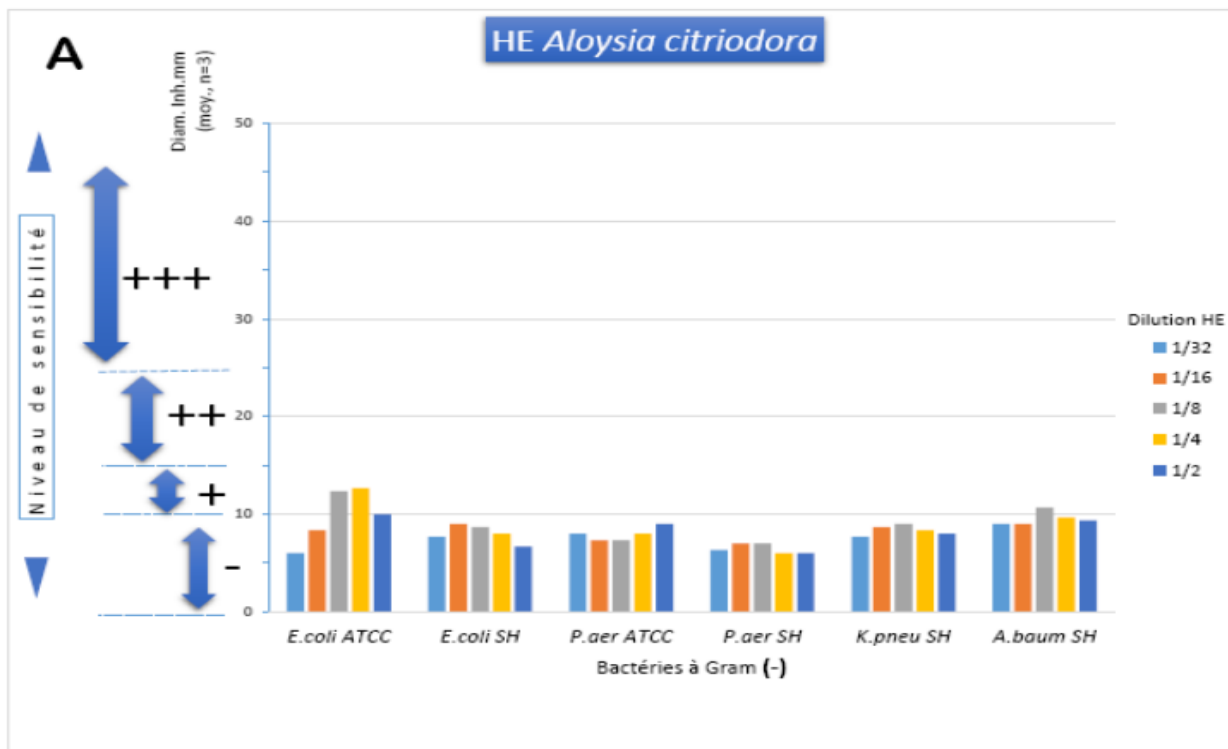


Chaque huile essentielle a été testée à différentes dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, et 1/32 v/v) sur neuf (09) souches bactériennes, six à Gram (-) [*E.coli* ATCC/SH, *P.aeruginosa* ATCC/SH, *K.pneumoniae*, et *A.baumannii*], et trois à Gram (+) [*S.aureus* ATCC/SH, et *Streptococcus sp.*] utilisant la méthode de disque. Les résultats sont illustrés dans les figures 175, 176, 177 et 178 pour les HEs d'*E.globulus*, d'*A.triphylla*, de *T.capitatus* et d'*O.vulgare*, respectivement. L'effet antimicrobien des huiles essentielles a aussi été testé sur une levure, *Candida albicans* (Figure 185).



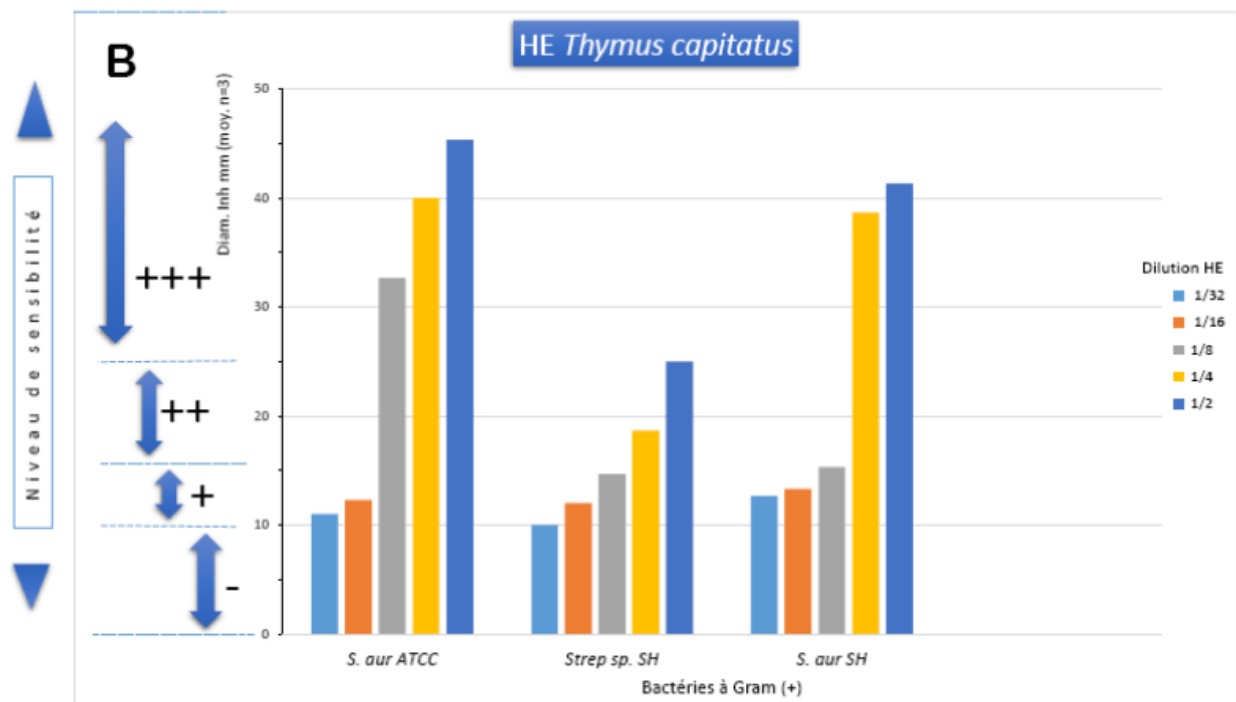
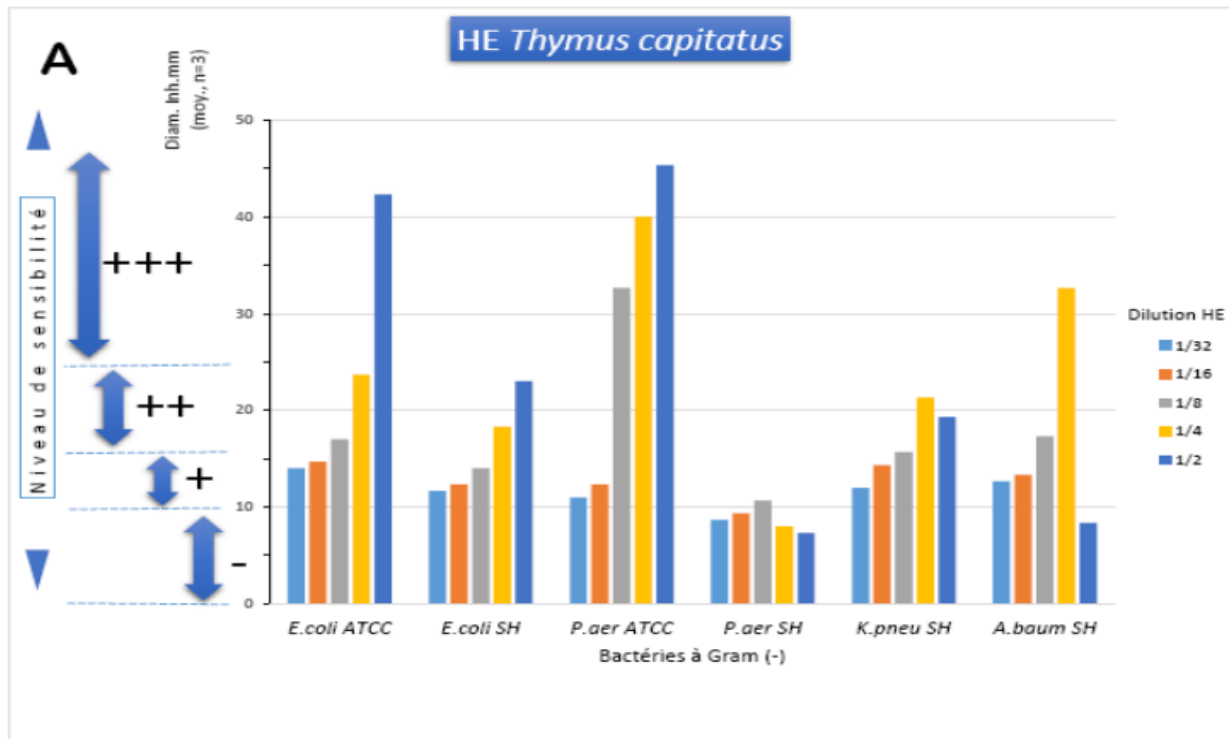
Niveau de sensibilité : (-)  $\varnothing < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \varnothing \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \varnothing \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\varnothing \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace [314-316].

**Figure 175 : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+) (B)] traitées par différentes dilutions de l'HE d'*E.globulus*.**



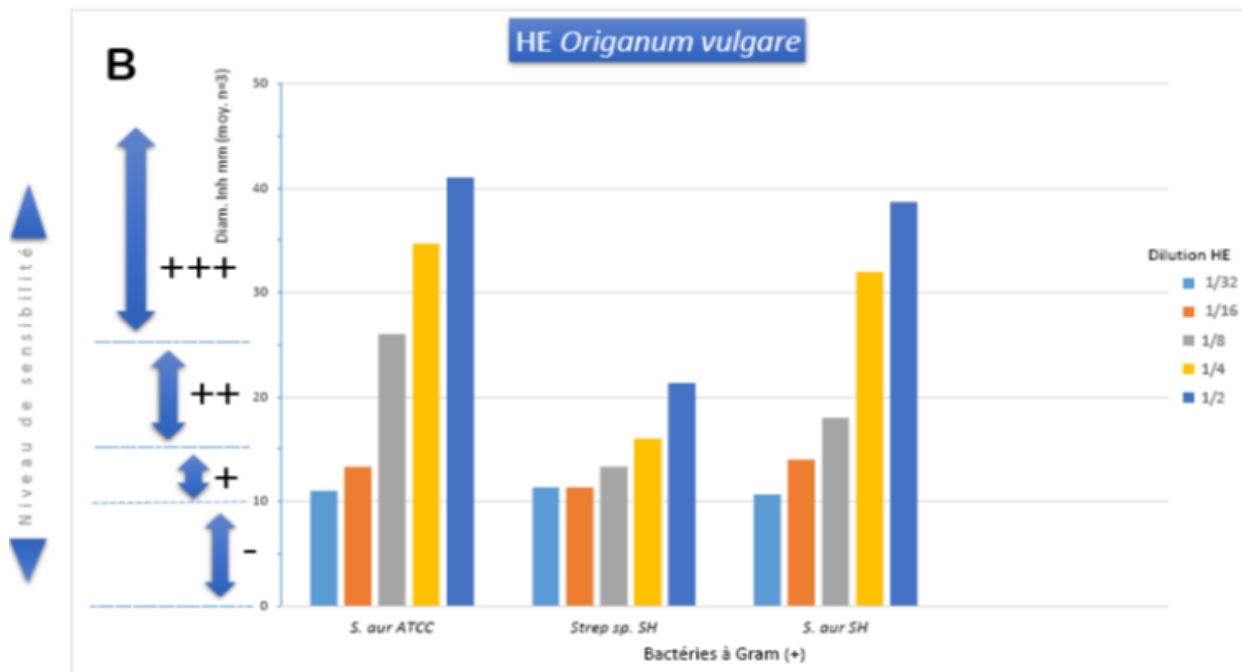
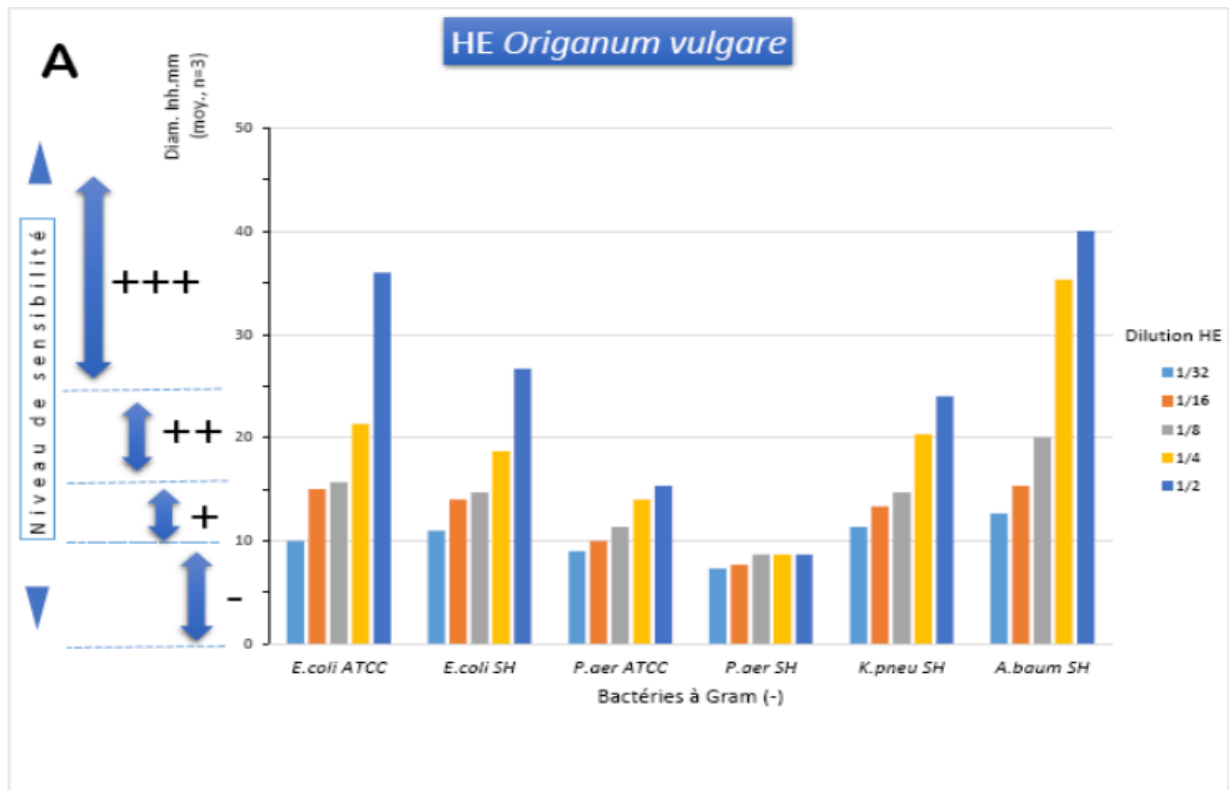
Niveau de sensibilité : (-)  $\varnothing < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \varnothing \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \varnothing \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\varnothing \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace [314-316].

**Figure 176 : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+) (B)] traitées par différentes dilutions de l'HE d'*A.triphylla*.**



Niveau de sensibilité : (-)  $\varnothing < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \varnothing \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \varnothing \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\varnothing \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace [314-316].

**Figure 177 : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+)] traitées par différentes dilutions de l'HE d'*T. capitatus*.**

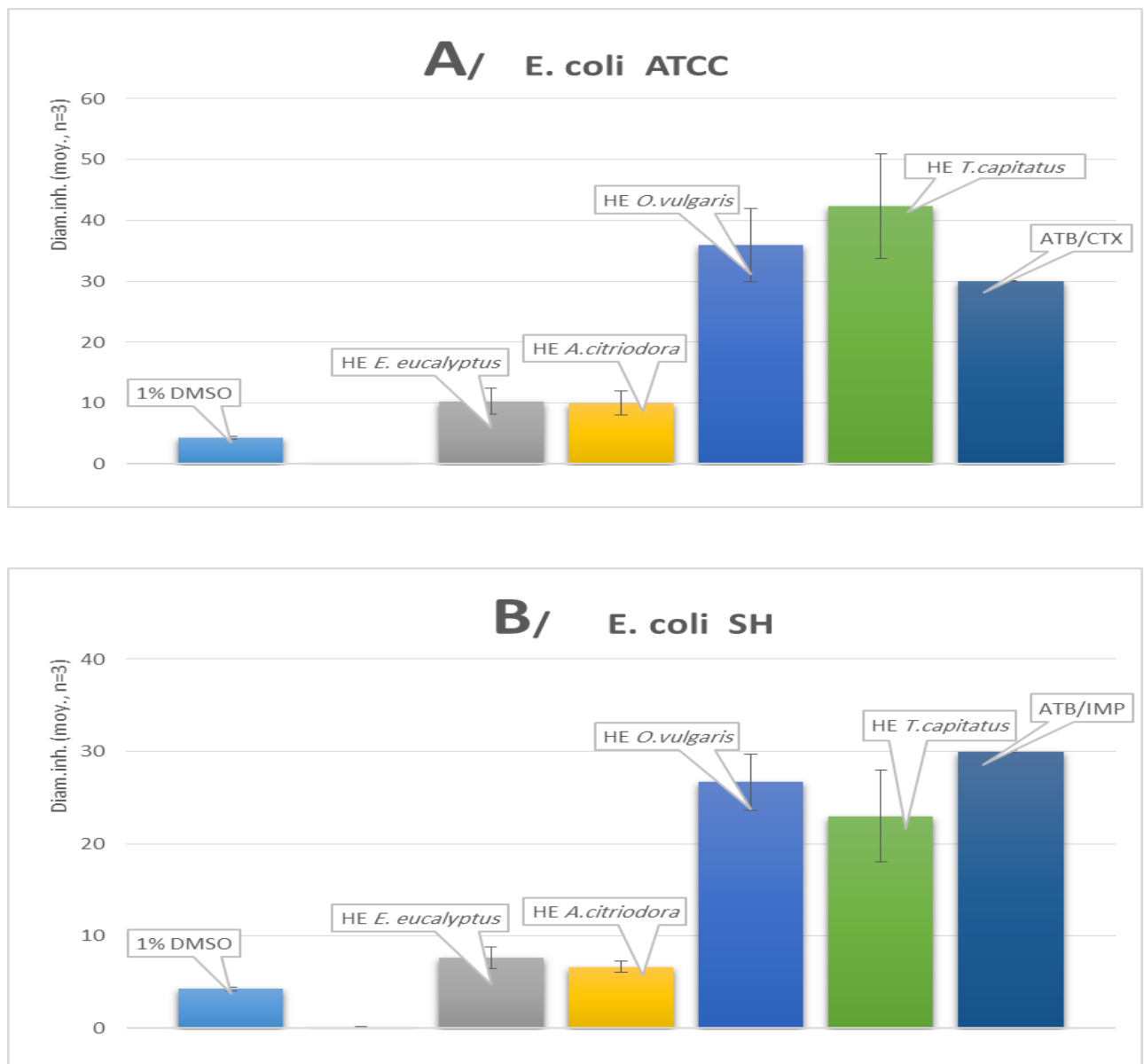


Niveau de sensibilité : (-)  $\varnothing < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \varnothing \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \varnothing \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\varnothing \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace [314-316].

**Figure 178 : Niveau de sensibilité des bactéries testées [Gram(-) (A) et Gram(+) (B)] traitées par différentes dilutions de l'HE d'*O.vulgare*.**

En première lecture des résultats, il peut être remarqué qu'à l'exception de la souche hospitalière *P. aeruginosa*, les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare* ont exercé des effets inhibiteurs aussi bien sur les bactéries à Gram (+) qu'à Gram (-), et cet effet est en général dose dépendant. Au contraire, la dose la plus élevée employée dans le cas des HEs d'*A.triphylla* et d'*E.globulus* (1/2, v/v) n'a produit presque aucun effet (diam. inhib. <10mm) sur la totalité des souches bactériennes testées.

Les résultats visualisés sur la figure 179 montrent que les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgaris*, ainsi que l'ATB témoin ont produit des effets antibactériens sur les deux souches d'*E.coli* (ATCC et SH) significativement supérieurs à celui du contrôle (-). Toutefois, les effets inhibiteurs des HEs des deux Lamiacées et de l'ATB témoin sont plus importants sur la souche référence que sur la souche clinique ou hospitalière. Les HEs d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* sont sans effet sur les deux souches d'*E.coli* testées.

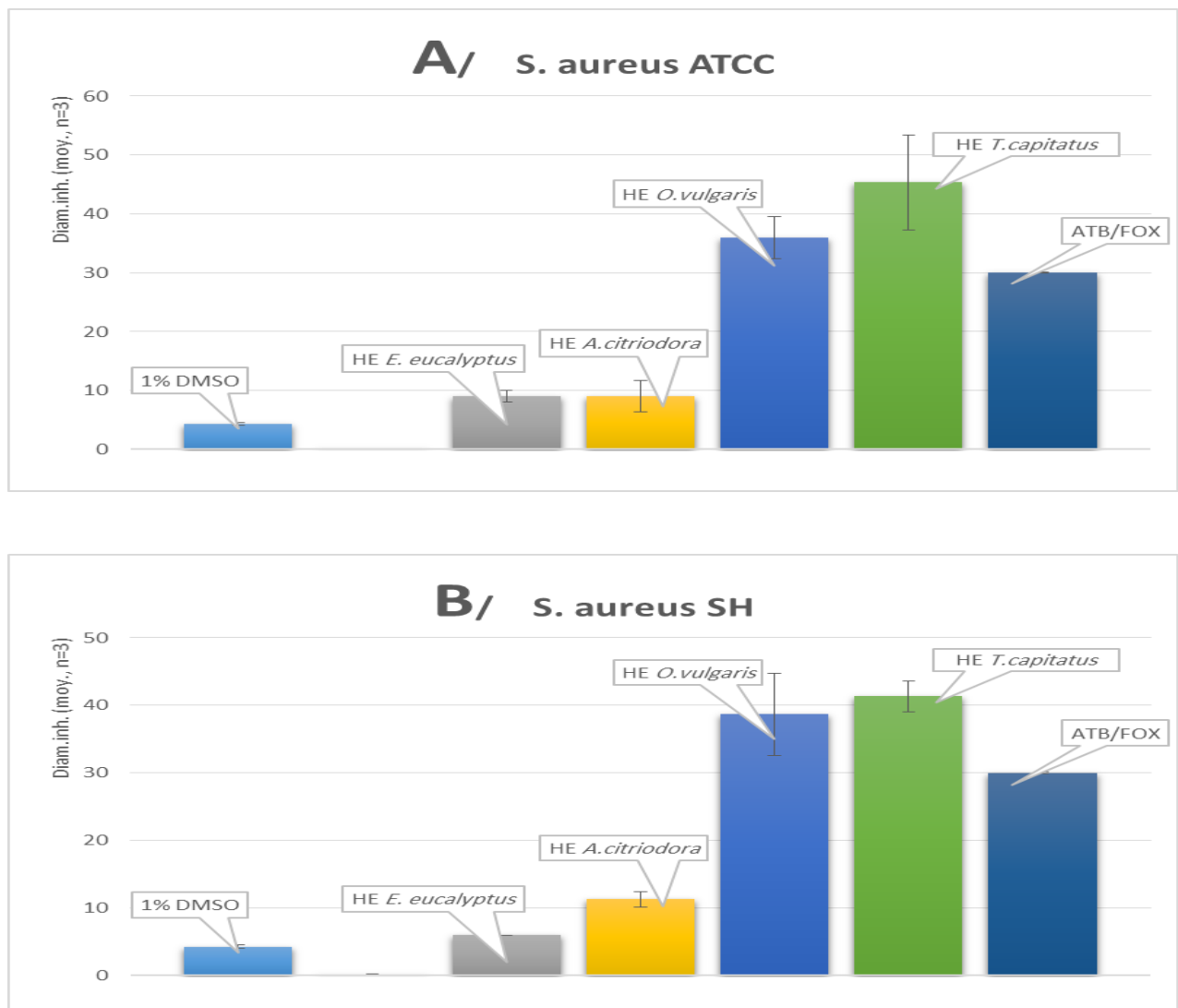


Niveau de sensibilité : (-)  $\emptyset < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \emptyset \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \emptyset \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\emptyset \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace.

**Figure 179 : Niveau de sensibilité d'*E.coli* [ATCC (A) et SH (B)] traitées par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin**



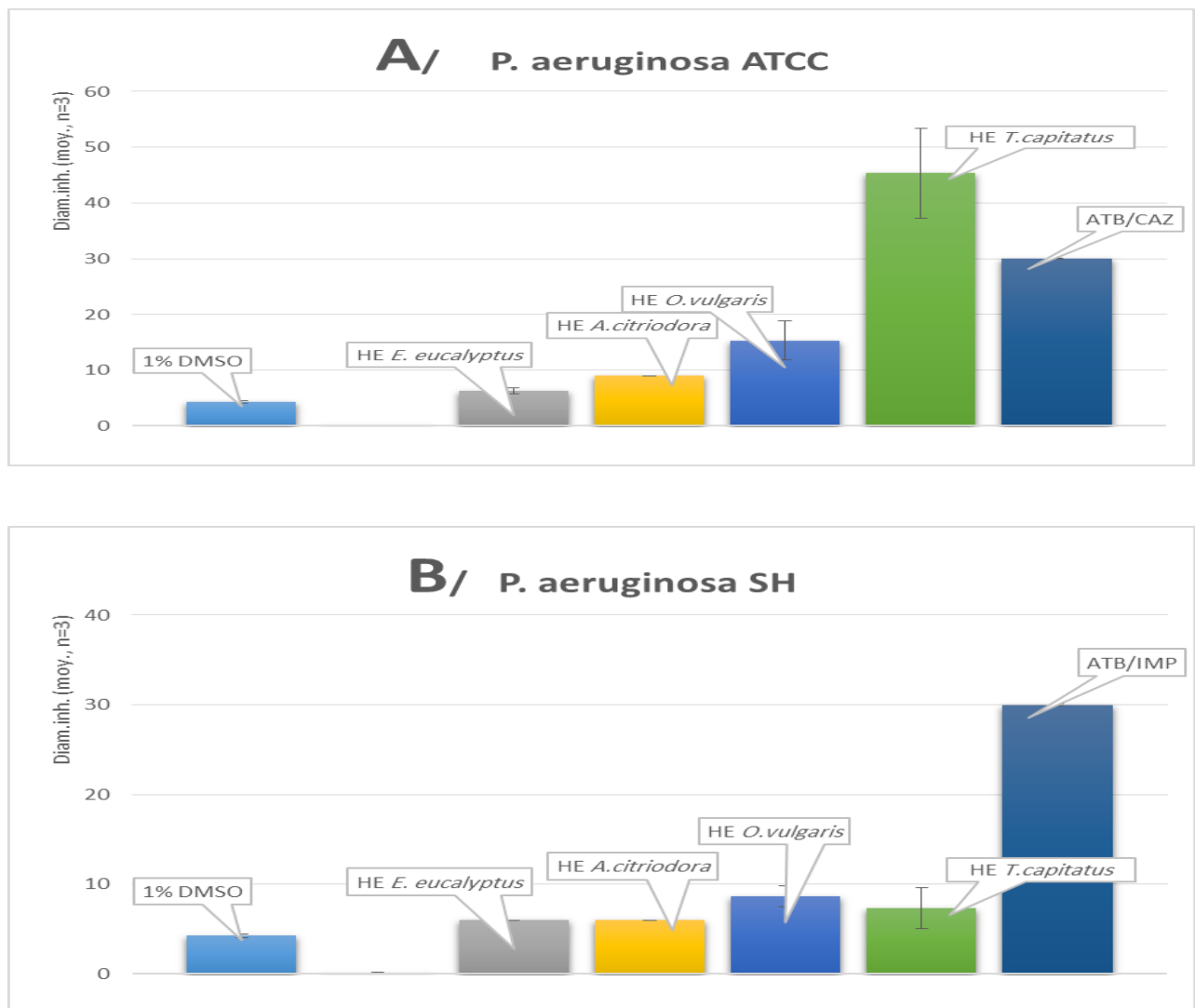
Les résultats visualisés sur la figure 180 montrent que les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgaris* ont produit des effets antibactériens sur les deux souches de *S.aureus* (ATCC et SH) significativement supérieurs à celui du contrôle (-). Cependant, aucune différence significative n'est notée entre les effets des deux HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgaris*. Pour sa part, l'effet de l'ATB témoin sur la croissance de *S.aureus* s'est révélé moins évident, notamment sur la souche hospitalière. Les HEs d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* n'ont montrées aucune action antibactérienne significative sur les deux souches testées de *S.aureus*. Globalement, on peut dire que les souches de *S.aureus* sont plus sensibles aux HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgaris* qu'à l'ATB témoin.



Niveau de sensibilité : (-)  $\emptyset < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \emptyset \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \emptyset \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\emptyset \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace.

**Figure 180 : Niveau de sensibilité de *S.aureus* [ATCC (A) et SH (B)] traitées par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin**

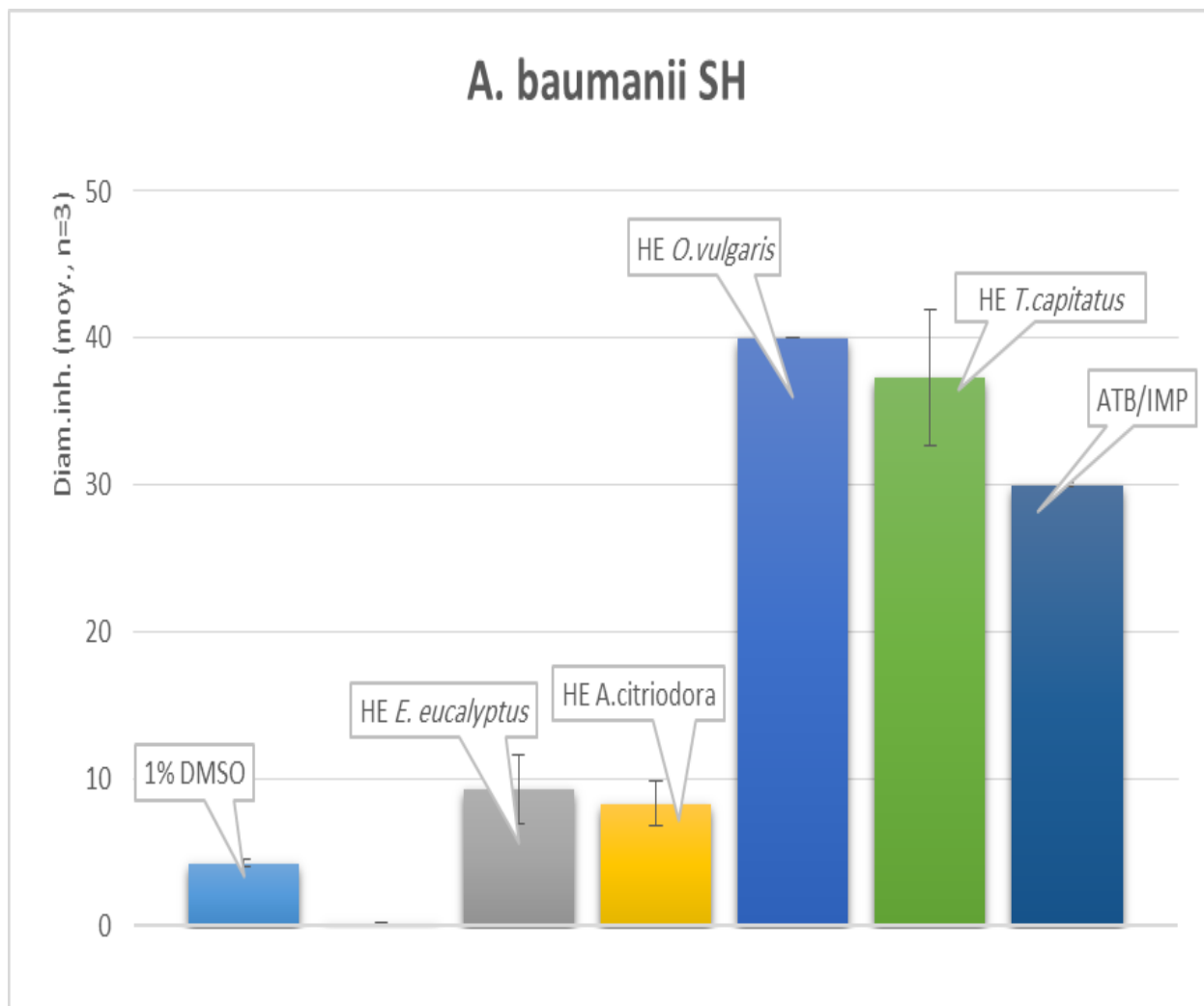
Les résultats visualisés sur la figure 181 montrent que les HEs de *T.capitatus*, d'*O.vulgare* et de l'ATB témoin ont produit des effets antibactériens sur la souche de *P. aeruginosa* de référence (ATCC) significativement supérieurs à celui du contrôle (-). Cependant, l'HE de *T.capitatus* s'est révélée largement plus active sur la souche de *P. aeruginosa* ATCC comparée à l'effet produit par l'HE d'*O.vulgare* sur la même souche. A l'exception de l'ATB témoin, les HEs de *T. capitatus* et d'*O.vulgare* n'ont produit aucun effet sur la souche hospitalière (SH) de *P. aeruginosa*. Pour leur part, les HEs d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* n'ont montrées aucune action antibactérienne significative sur les deux souches testées de *P. aeruginosa* (ATCC et SH).



Niveau de sensibilité : (-)  $\emptyset < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \emptyset \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \emptyset \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\emptyset \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace.

**Figure 181: Niveau de sensibilité de *P. aeruginosa* [ATCC (A) et SH (B)] traitées par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin**

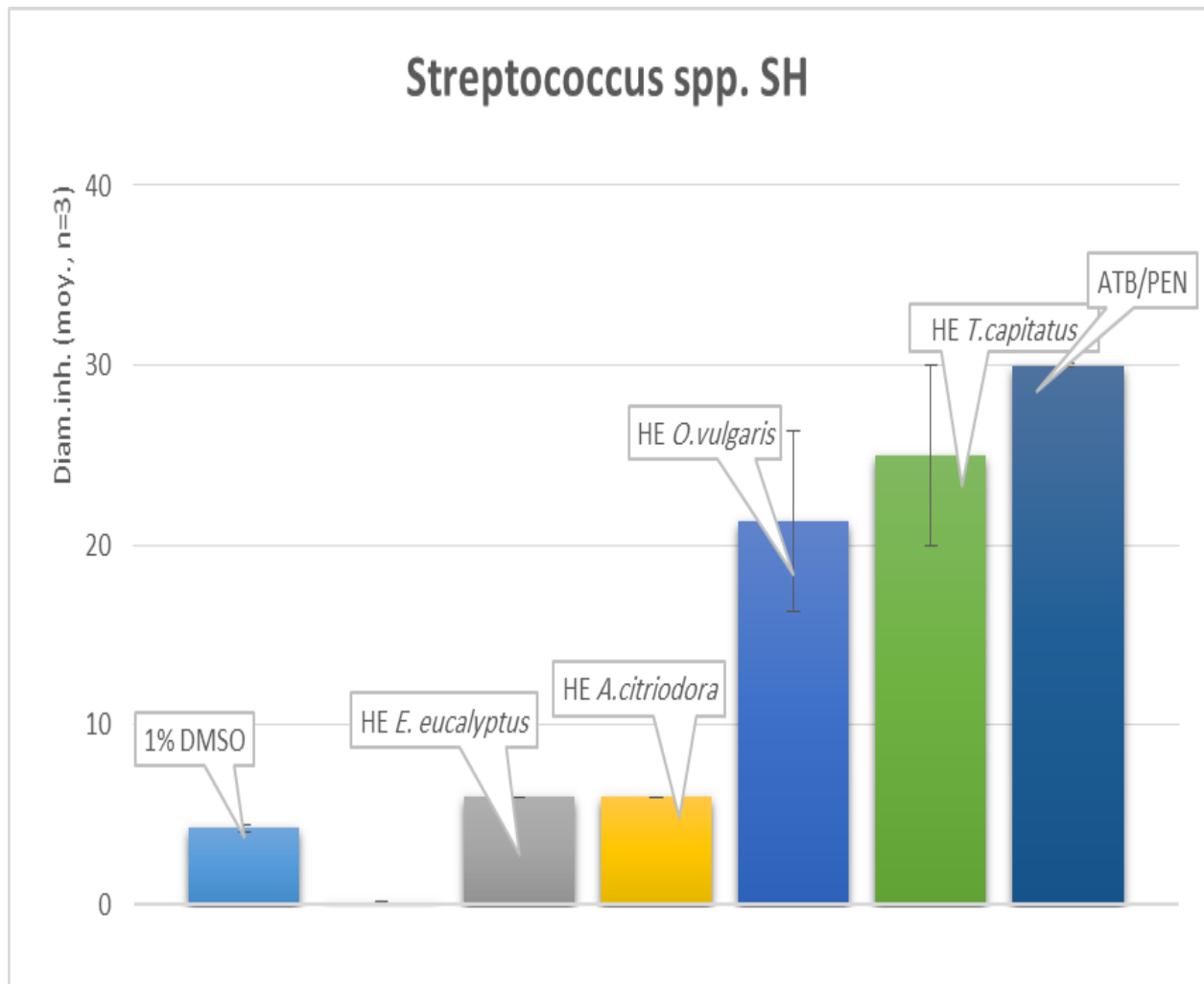
Les résultats visualisés sur la figure 182 montrent que les HEs de *T.capitatus*, d'*O.vulgare* et de l'ATB témoin induisent des effets antibactériens sur la souche hospitalière d'*A.baumannii* significativement supérieurs à celui du contrôle (-). Cependant, aucune différence significative n'est notée entre les effets des deux HEs de *T. capitatus* et d'*O.vulgare*. Pour leur part, les HEs d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* n'ont montrées aucune action antibactérienne significative sur la souche testée d'*A.baumannii*.



Niveau de sensibilité : (-)  $\emptyset < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \emptyset \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \emptyset \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\emptyset \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace

**Figure 182 : Niveau de sensibilité d'*A. baumannii* SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin**

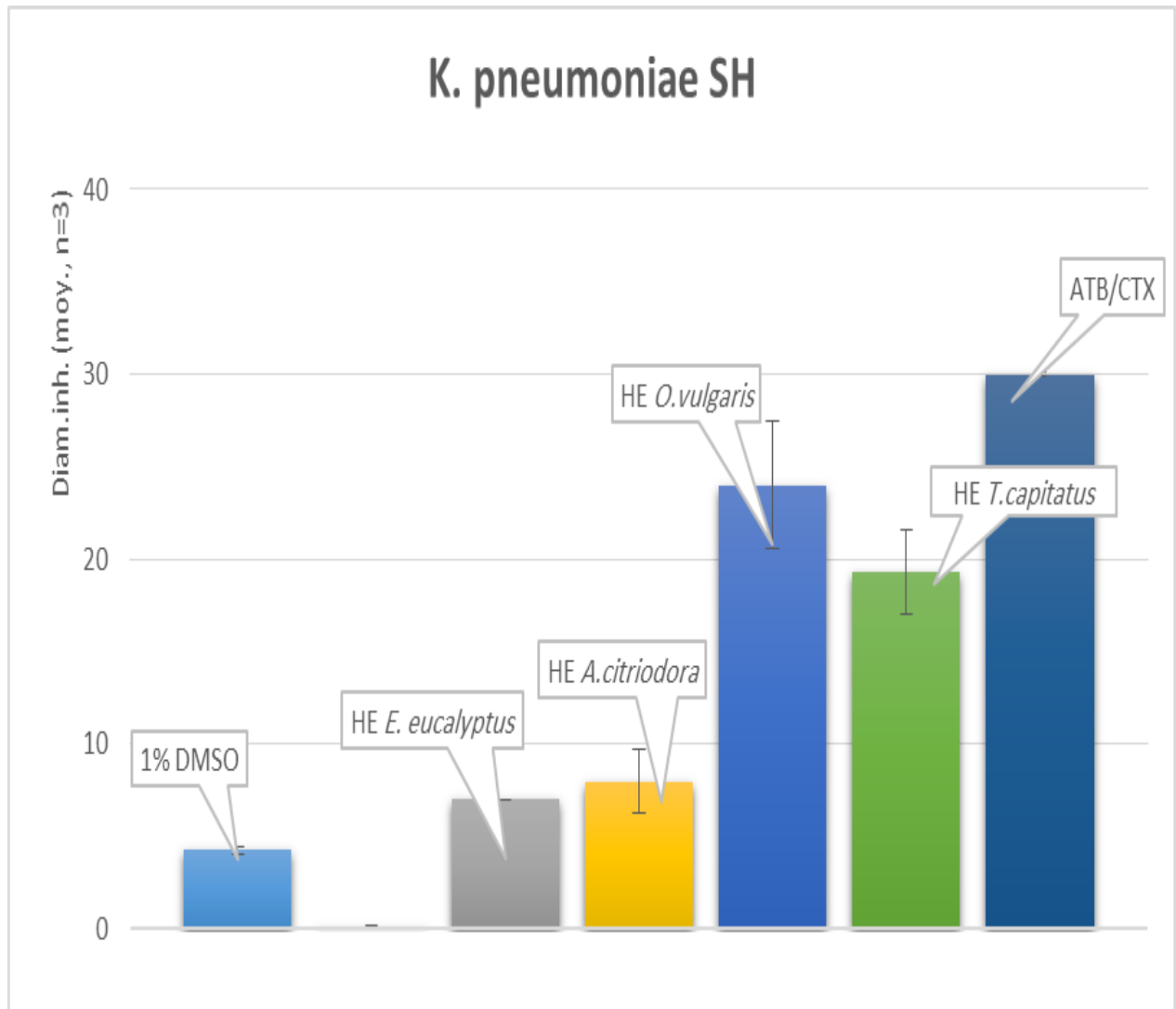
Les résultats visualisés sur la figure 183 montrent que les HEs de *T.capitatus*, d'*O.vulgare* et de l'ATB témoin induisent des effets antibactériens sur la souche hospitalière de *Streptococcus sp.* significativement supérieurs à celui du contrôle (-). Cependant, aucune différence significative n'est notée, d'une part entre les effets des deux HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare*, et d'autre part, les HEs et l'ATB témoin. Les HEs d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* n'ont montrées aucune action antibactérienne significative sur la souche hospitalière de *Streptococcus spp* testée.



Niveau de sensibilité : (-)  $\emptyset < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \emptyset \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \emptyset \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\emptyset \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace.

**Figure 183 : Niveau de sensibilité de *Streptococcus sp.* SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin**

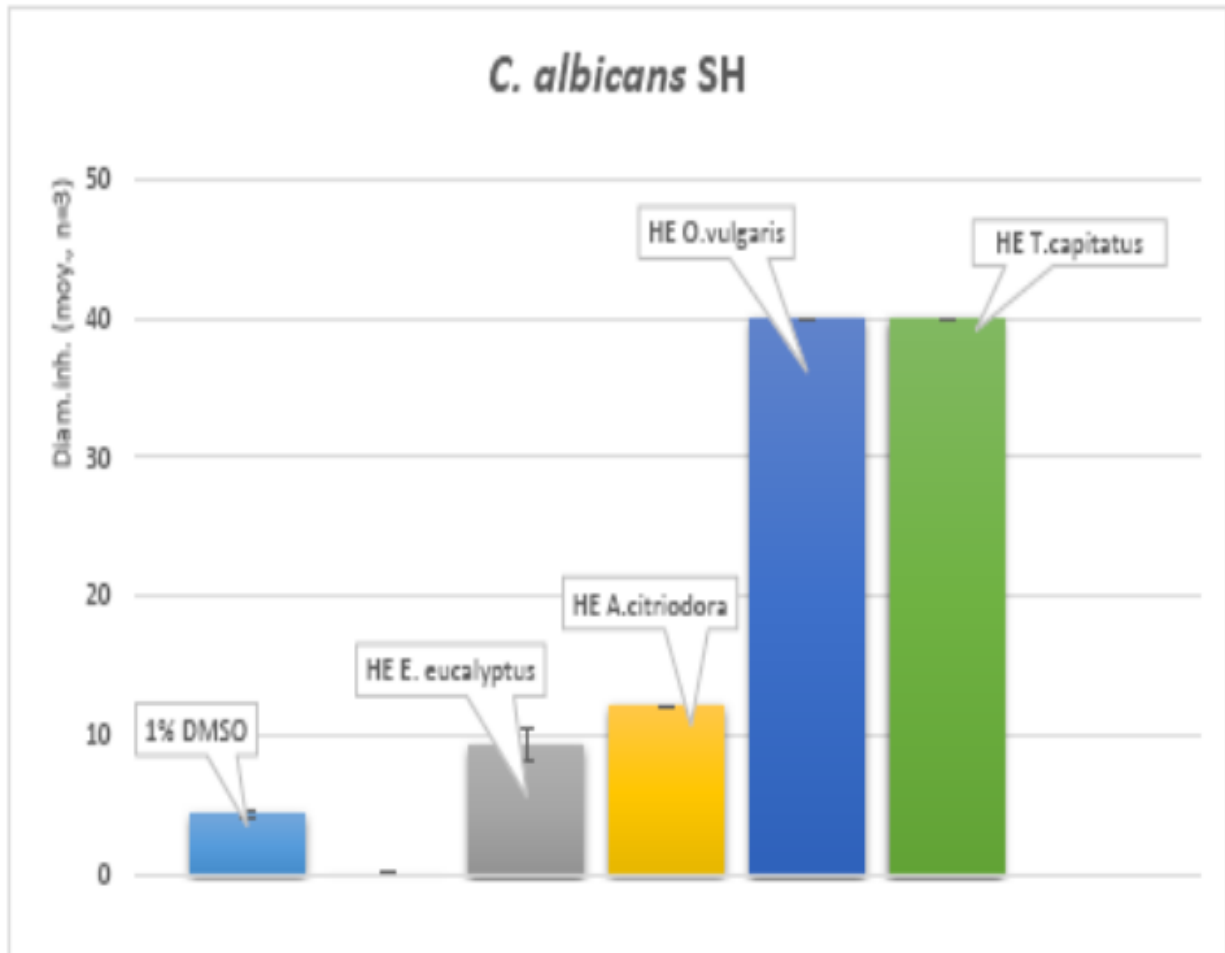
Finalement, les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgaris* inhibent d'une façon significative la souche hospitalière *K.pneumoniae* testée par rapport au contrôle (-) (Figure 184). Les effets produits par ces deux HEs sont assez proche à celui induit par l'ATB témoin. Pour leur part, les HEs d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* n'ont montrées aucune action antibactérienne sur la souche hospitalière de *K. pneumoniae* testée.



Niveau de sensibilité : (-)  $\emptyset < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \emptyset \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \emptyset \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\emptyset \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace.

**Figure 184 : Niveau de sensibilité de *K. pneumoniae* SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v) et l'ATB témoin**

Les résultats de la figure 185 montrent que les HEs de *T.capitatus*, d'*O.vulgare* ont produit des effets inhibiteurs importants sur la souche hospitalière de *C.albicans* testée comparé à celui du contrôle (-). Aucune différence significative n'est observée entre les effets produits par les deux HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare*. Les autres HEs ont produit des effets jugés comme modéré (*A.citriodora*) à sans effet (*E.globulus*) sur la seule levure testée.



Niveau de sensibilité : (-)  $\emptyset < 10$  mm, HE sans action inhibitrice ; (+)  $16 > \emptyset \geq 10$  mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++)  $25 > \emptyset \geq 16$  mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++)  $\emptyset \geq 25$  mm, HE à une action inhibitrice très efficace.

**Figure 185 : Niveau de sensibilité de *C. albicans* SH traitée par les différentes HEs (1/2, v/v)**

Tableau 70 : Synthèse de niveau de sensibilité de bactéries testées vis-à-vis des HEs étudiées

		◀-----niveau de sensibilité*-----▶				
		-	+	++	+++	
<i>HE d'E.globulus</i>	Gram (-)	<i>E.coli</i> ATCC <i>E.coli</i> SH <i>P. aeruginosa</i> ATCC <i>P. aeruginosa</i> SH <i>K.pneumoniae</i> SH <i>A.baumannii</i> SH				
	Gram(+)	<i>S.aureus</i> ATCC <i>S.aureus</i> SH <i>Strepto sp.</i> SH				
<i>HE A.triphylla</i>	Gram (-)	<i>E.coli</i> ATCC <i>E.coli</i> SH <i>P. aeruginosa</i> ATCC <i>P. aeruginosa</i> SH <i>K.pneumoniae</i> SH <i>A.baumannii</i> SH				
	Gram(+)	<i>S.aureus</i> ATCC <i>S.aureus</i> SH <i>Strepto sp.</i> SH				
<i>HE de T. capitatus</i>	Gram (-)	<i>E.coli</i> ATCC <i>E.coli</i> SH <i>P. aeruginosa</i> ATCC <i>P. aeruginosa</i> SH <i>K.pneumoniae</i> SH <i>A.baumannii</i> SH				
	Gram(+)	<i>S.aureus</i> ATCC <i>S.aureus</i> SH <i>Strepto sp.</i> SH				
<i>HE d'O.vulgare</i>	Gram (-)	<i>E.coli</i> ATCC <i>E.coli</i> SH <i>P. aeruginosa</i> ATCC <i>P. aeruginosa</i> SH <i>K.pneumoniae</i> SH <i>A.baumannii</i> SH				
	Gram(+)	<i>S.aureus</i> ATCC <i>S.aureus</i> SH <i>Strepto sp.</i> SH				

Légende : \* Niveau de sensibilité : (-) Ø < 10 mm, HE sans action inhibitrice ; (+) 16 > Ø ≥ 10 mm, HE à une action inhibitrice intermédiaire ; (++) 25 > Ø ≥ 16 mm, HE à une action inhibitrice importante ; (+++) Ø ≥ 25 mm, HE à une action inhibitrice très efficace.



Le but de cette étude étant d'évaluer *in vitro* le potentiel antimicrobien de quatre extraits d'huiles essentielles de plantes sélectionnées à l'issue d'enquêtes ethnopharmacologiques, à savoir *T.capitatus*, *O.vulgare*, *E.globulus* et *A.triphylla*. L'étude a été réalisée sur neuf (9) bactéries, de référence, de source hospitalière ; et une seule levure. Ces microorganismes sont considérés, entre autres, comme des pathogènes opportunistes associées à des infections respiratoires.

A l'issu des essais d'activités antimicrobiennes, il peut être noté que :

- Les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare* agissent en inhibant significativement la croissance à la fois des bactéries à Gram (+) et à Gram (-), à l'exception de la souche hospitalière de *P.aeruginosa* utilisée ;
- Les effets inhibiteurs des HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare* sur les bactéries et la levure sont comparables ;
- L'effet inhibiteur de l'HE de *T.capitatus* ou d'*O.vulgare* est dose dépendant, et se manifeste plus à des concentrations élevées (1/2, v/v) ;
- Les souches bactériennes de référence (ATCC) testées, en l'occurrence *S.aureus*, *E.coli* et *P.aeruginosa*, sont plus sensibles aux HEs des deux espèces de Lamiacées que les souches hospitalières (SH) ;
- Les HEs d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* se sont révélées pas ou très peu actives sur les bactéries et la levure testées.

Plusieurs travaux ont rapporté que les bactéries Gram (+) sont plus susceptibles aux HEs que les bactéries Gram (-) [380-383]. Ces dernières possèdent une membrane externe, imperméable aux composés hydrophobes (ou lipophiles) des HEs grâce à son revêtement lipo-polysaccharidique qui la protège. L'absence de cette barrière, chez les bactéries Gram (+) permet le contact direct des constituants lipophiles de l'HE avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une déficience au niveau du système enzymatique [381, 384]. Cette hypothèse peut être généralisée à toutes les huiles essentielles à monoterpènes et sesquiterpènes à squelette non ou peu polaire.

Nos résultats sont plutôt mitigés sur ce point, puisque les effets antibactériens de *T.capitatus* et d'*O.vulgare* se sont manifestés autant sur les bactéries à Gram (-) que celles à Gram (+). La raison pourrait être dans la nature des phytoconstituants de ces HEs (*T.capitatus* et d'*O.vulgare*), renfermant une proportion importante en alcools phénoliques, plus de 70% et 50%, respectivement. Ces phénols, représentés principalement par le thymol et le carvacrol, sont relativement plus polaires que les constituants terpéniques à caractère lipophile fréquemment retrouvés dans les autres huiles essentielles. Par conséquent, ils peuvent plus facilement altérer la membrane cytoplasmique aussi bien des bactéries à Gram (+) qu'à Gram (-) [385].

La présente étude a révélé aussi que les souches bactériennes de référence (ATCC) testées, en l'occurrence *S.aureus*, *E.coli* et *P.aeruginosa*, sont plus sensibles aux HEs des deux espèces de Lamiacées que les souches hospitalières (SH).

Pour sa part, la souche hospitalière de *P.aeruginosa* s'est montrée moins sensible aux quatre HEs utilisées, même à la dose la plus élevée utilisée lors de notre étude (1/2, v/v). Nos résultats sont cohérents avec ceux d'une étude récente déjà faite avec une soixantaine d'HEs, dont des thymus à thymol, et qui a signalé qu'une souche clinique de *P.aeruginosa* (PAO1) s'est révélée particulièrement résistante à toutes les HEs testées à l'exception de trois, à savoir les HEs de cade, de cannelle de Ceylan et du bouleau [386]. Une autre étude faite sur des HEs de thymus Algériens (*Thymus capitatus* et *Thymus hirtus* ssp. *algeriensis*) a signalé que toutes les souches testées étaient très sensibles aux huiles essentielles, à l'exception d'une souche *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), qui a présenté une certaine résistance [387]. Cependant, une étude réalisée avec des souches cliniques de *P.aeruginosa* résistantes à l'imipénème par production d'enzymes de résistance aux carbapénèmes (VIM-2 carbapénémases) a montré que les HEs d'*O.vulgare* et de *T.ciliatus* (syn. *Thymus serpyllum* subsp. *serpyllum*), riches en thymol et carvacrol inhibent modérément la croissance de ces souches par rapport aux autres bactéries testées (*Escherichia coli* ATCC25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC2921). Selon les auteurs de cette étude, les effets des HEs produits sur les souches hospitalières de *Pseudomonas* sont comparables à celui observé avec la souche de référence *P.aeruginosa* (ATCC27853) sensible aux carbapénèmes [388]. Ce qui suggère que la résistance aux antibiotiques n'a aucune relation avec la sensibilité aux HEs, indiquant des cibles bactériennes différentes.

A noter que la bactérie (*P.aeruginosa*) est un bacille à Gram négatif, aérobic strict et non fermentaire. Il est le troisième agent le plus incriminé dans les infections nosocomiales en Algérie, notamment dans les pneumopathies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique (PNAVM)

au niveau des unités de soins intensifs [389, 390]. Cette bactérie est caractérisée par une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques limitant le nombre de thérapeutiques efficaces [391]. La sensibilité réduite de *P.aeruginosa* aux antibiotiques serait attribuée à la structure typique de la membrane externe de ce genre, particulièrement imperméable aux molécules hydrophobes.

Plusieurs molécules présentes dans les huiles essentielles sont douées de propriétés antimicrobiennes et particulièrement les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalool) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde). Ce sont généralement les huiles essentielles riches en de telles molécules qui présentent la plus grande efficacité anti-microbienne [392].

Afin de finaliser cette section de notre travail pratique, on peut signaler que nos résultats d'études antimicrobiennes rejoignent les travaux déjà réalisés sur les huiles essentielles étudiées, à savoir :

- L'HE du *Thymus capitatus* qui s'est révélé très active presque contre toutes les souches testées, et cette forte activité antibactérienne et antifongique a été aussi signalé dans les études faites par [A.M. Dzamic et al., 2015] et [Hercules Sakkas et al., 2017] [393, 394]. C'est le cas aussi de l'HE d'*Origanum vulgare*, avec ces actions antimicrobiennes impressionnantes sur les germes testés qui ont été rapportées par des études antérieures signalés également par [Hercules Sakkas et al., 2017], et [Diane Horne et al., 2001] [394, 395].
- L'HE d'*Eucalyptus globulus* a montré une activité antimicrobienne relativement faible à modérée vis-à-vis les germes testés ; ces résultats cohérent avec ceux obtenus dans l'étude faite par [Angela E.Sadlon et al., 2010] [396].
- L'HE d'*Aloysia triphylla* a montré une activité antimicrobienne très faible sur l'ensemble des souches microbiennes testées ; ces résultats ont été aussi marqués dans des études antérieures faites par [Moulay Ali Oukerrou et al., 2017] et [Faranak Shafi et al., 2016], avec de légères différences. Cependant et à l'inverse, une forte activité anti-candida a été cité dans une étude menée par [Nidal Jaradat et al., 2021] [397, 398, 399].

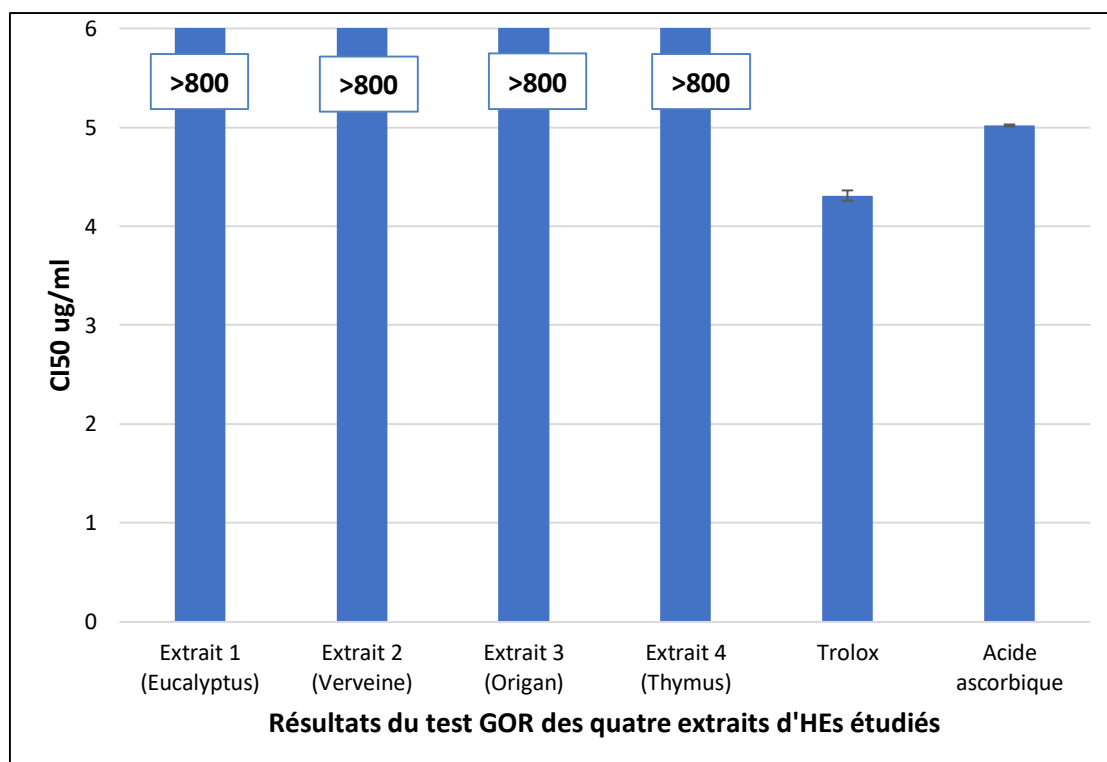
## VII.3.2.2. Evaluation de l'activité anti-oxydante

## VII.3.2.2.1. Le test galvinoxyl radical (GOR)

Les résultats du test GOR sont présentés dans le tableau 71 et la figure 186.

Tableau 71 : Résultats du test GOR des quatre extraits d'HEs étudiés

Concentration (µg/mL)	Extraits étudiés							CI <sub>50</sub> (µg/ml)
	12.5	25	50	100	200	400	800	
<i>Extrait 1 Eucalyptus</i>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2,19±0,63	>800
<i>Extrait 2 Verveine</i>	NA	NA	NA	NA	NA	7,62±2,65	13,75±1,27	>800
<i>Extrait 3 Origan</i>	NA	NA	8,04±1,31	16,54±2,63	22,72±0,58	35,55±2,18	40,59±1,03	>800
<i>Extrait 4 Thymus</i>	NA	1,74±0,60	7,62±0,43	16,20±0,51	29,18±3,47	37,40±0,79	41,04±0,24	>800
Contrôles (+)								
Concentration (µg/mL)	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	12.5	25	CI <sub>50</sub> (µg/ml)
<i>Trolox</i>	7,04±2,04	6,91±1,33	13,93±0,35	41,22±1,88	71,32±0,08	71,82±0,44	72,42±0,35	4,31±0,05
<i>Acide ascorbique</i>	12,75±0,21	14,11±0,81	14,11±0,81	20,40±0,47	69,24±0,10	69,42±0,10	70,99±0,00	5,02±0,01

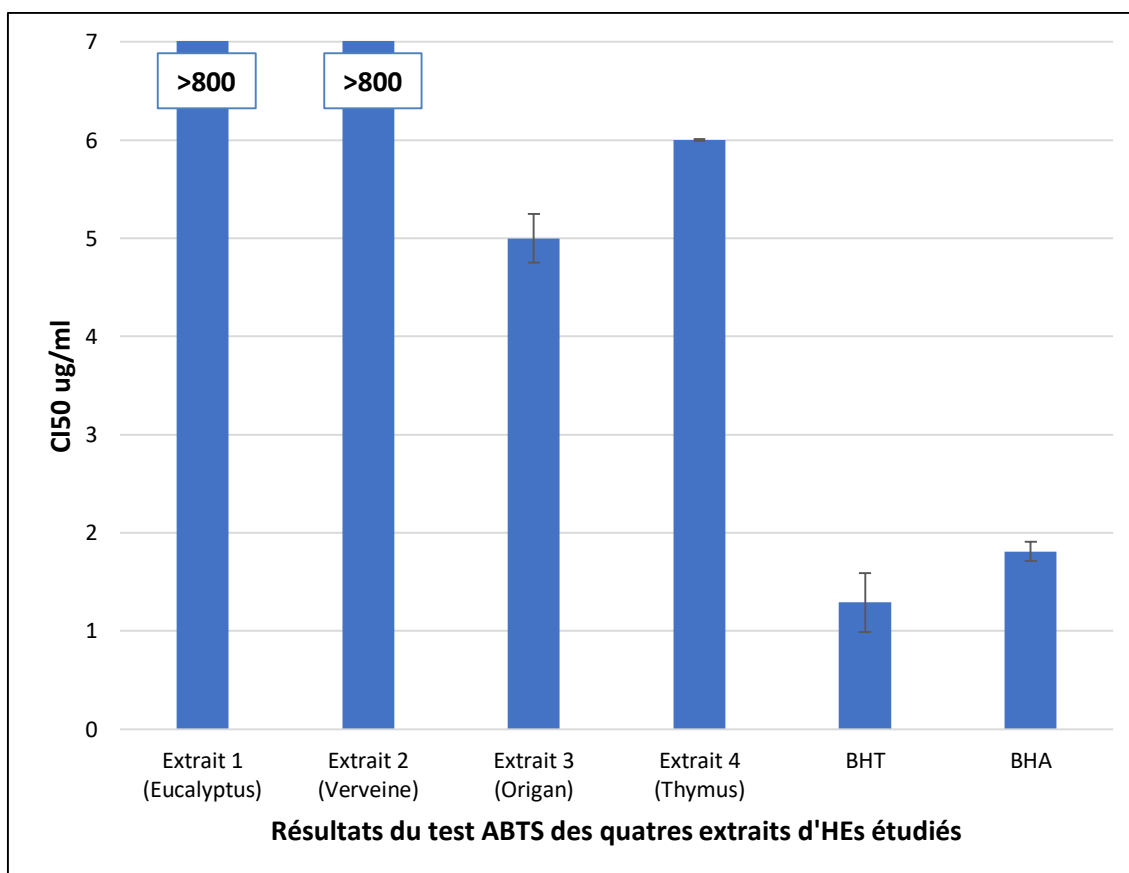
Figure 186 : Valeurs CI<sub>50</sub> des quatre extraits d'HEs étudiés par le test GOR

### VII.3.2.2.2. Activité inhibitrice du radical libre ABTS

Les résultats de l'activité inhibitrice du radical libre ABTS sont présentés dans le tableau 72 et la figure 187.

**Tableau 72 : Résultats de l'activité inhibitrice du radical libre ABTS<sup>•+</sup> des quatre extraits d'HEs étudiés**

Conc. (µg/mL)	Extraits étudiés							
	12.5	25	50	100	200	400	800	CI <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Extrait 1 Eucalyptus</i>	7,16±3,56	13,08±0,95	11,71±0,89	14,27±0,78	18,03±1,04	27,37±0,94	41,48±1,73	>800
<i>Extrait 2 Verveine</i>	5,91±1,52	7,78±0,78	12,11±1,33	14,22±1,42	20,08±2,18	24,92±2,27	26,63±0,26	>800
<i>Extrait 3 Origan</i>	6,76±0,56	9,89±2,55	13,31±0,49	19,87±0,91	33,58±1,06	61,25±3,20	89,16±0,49	5,00±0,25
<i>Extrait 4 Thymus</i>	NA	9,83±1,50	11,29±1,15	16,38±0,21	16,74±5,30	52,86±0,56	86,29±0,94	6,00±0,01
<b>Contrôles Conc. (µg/mL)</b>	<b>0,195313</b>	<b>0,390625</b>	<b>0,78125</b>	<b>1,5625</b>	<b>3,125</b>	<b>6,25</b>	<b>12,5</b>	<b>CI<sub>50</sub> (µg/mL)</b>
<i>BHT</i>	69,21±0,40	78,23±1,34	88,12±1,28	88,76±3,07	90,85±1,74	90,95±0,51	96,68±0,39	1,29±0,30
<i>BHA</i>	92,83±1,42	94,68±0,42	94,95±0,90	95,32±0,25	95,59±0,47	95,83±0,15	95,86±0,10	1,81±0,10



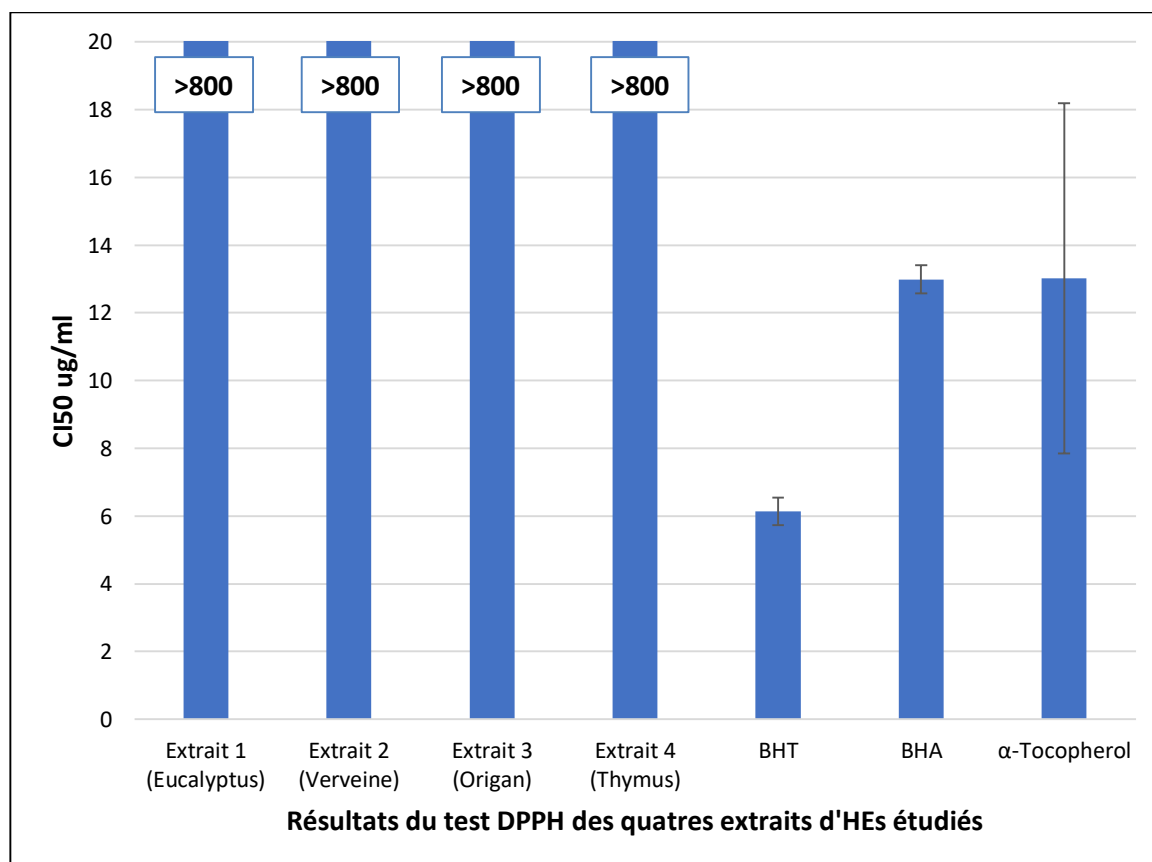
**Figure 187 : Valeurs CI<sub>50</sub> des quatre extraits d'HEs étudiés dans la méthode de piégeage de l'ABTS**

VII.3.2.2.3. *Activité inhibitrice du radical libre DPPH*

Les résultats de l'activité inhibitrice du radical libre DPPH sont présentés dans le tableau 73 et la figure 188.

**Tableau 73 : Résultats du test DPPH des quatre extraits d'HEs étudiés**

Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )	Extraits étudiés							
	12.5 $\mu\text{g}$	25 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$	100 $\mu\text{g}$	200 $\mu\text{g}$	400 $\mu\text{g}$	800 $\mu\text{g}$	CI <sub>50</sub> $\mu\text{g/mL}$
<i>Extrait 1 Eucalyptus</i>	NA	NA	NA	NA	NA	4,24 $\pm$ 1,60	11,01 $\pm$ 9,02	>800
<i>Extrait 2 Verveine</i>	NA	NA	NA	NA	NA	3,68 $\pm$ 0,68	7,09 $\pm$ 1,52	>800
<i>Extrait 3 Origan</i>	NA	NA	3,34 $\pm$ 1,51	7,48 $\pm$ 0,29	11,06 $\pm$ 1,28	21,19 $\pm$ 0,10	34,29 $\pm$ 0,26	>800
<i>Extrait 4 Thymus</i>	2,11 $\pm$ 1,43	3,84 $\pm$ 0,68	3,84 $\pm$ 0,68	7,09 $\pm$ 0,98	14,20 $\pm$ 1,34	24,83 $\pm$ 1,01	39,66 $\pm$ 0,51	>800
<b>BHA</b>	76,55 $\pm$ 0,48	79,89 $\pm$ 0,26	81,73 $\pm$ 0,10	84,18 $\pm$ 0,10	87,13 $\pm$ 0,17	89,36 $\pm$ 0,19	90,14 $\pm$ 0,00	6,14 $\pm$ 0,41
<b>BHT</b>	49,09 $\pm$ 0,76	72,63 $\pm$ 2,06	88,73 $\pm$ 0,89	94,00 $\pm$ 0,31	94,97 $\pm$ 0,08	95,38 $\pm$ 0,41	95,02 $\pm$ 0,23	12,99 $\pm$ 0,41
<b><math>\alpha</math>-Tocopherol</b>	37,21 $\pm$ 1,82	81,53 $\pm$ 1,51	89,23 $\pm$ 0,12	89,38 $\pm$ 0,19	89,45 $\pm$ 0,22	89,99 $\pm$ 0,23	89,52 $\pm$ 0,33	13,02 $\pm$ 5,17



**Figure 188 : Valeurs CI<sub>50</sub> des quatre extraits d'HEs étudiés dans la méthode de piégeage du DPPH**

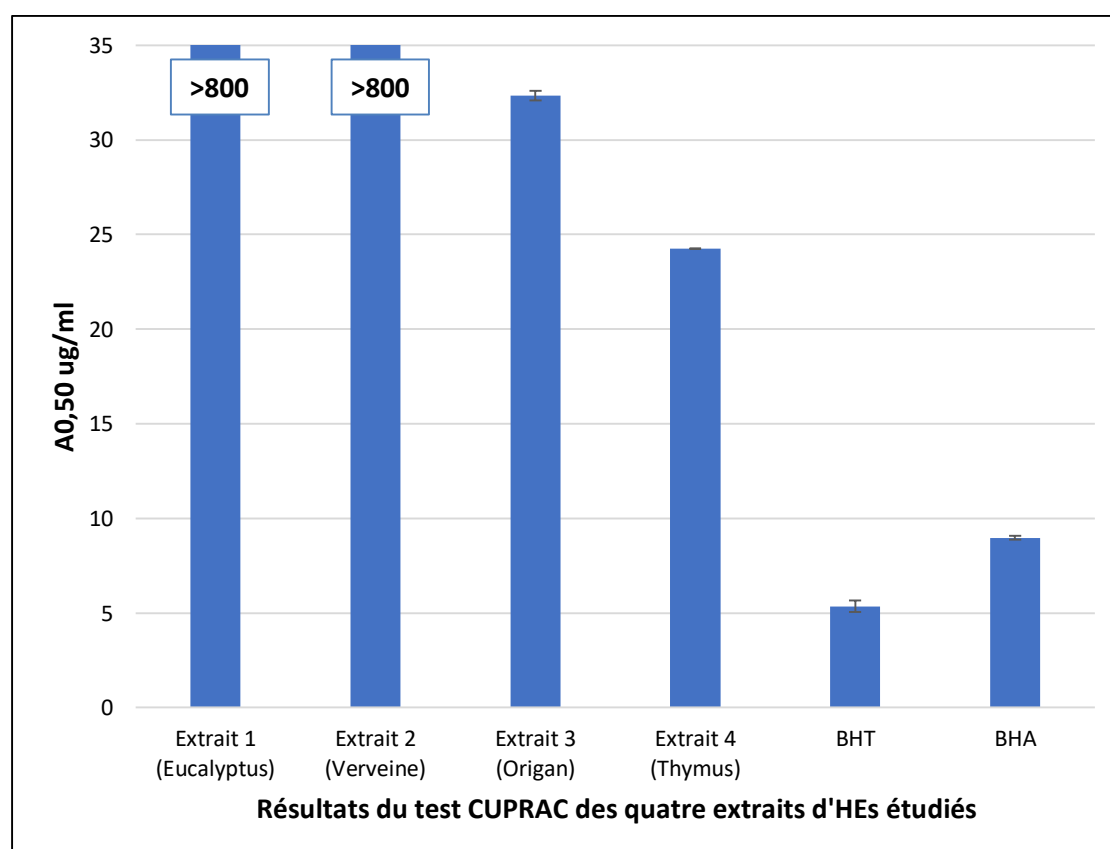
### VII.3.2.2.4. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Les résultats de l'activité CUPRAC sont présentés dans le tableau 74 et la figure 189.

**Tableau 74 : Résultats de l'activité CUPRAC des quatre extraits d'HEs étudiés**

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Extraits étudiés							
	12.5 $\mu\text{g}$	25 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$	100 $\mu\text{g}$	200 $\mu\text{g}$	400 $\mu\text{g}$	800 $\mu\text{g}$	$A_{0,50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Extrait 1 Eucalyptus</i>	NA	NA	NA	0,21 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,01	0,21 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,02	>800
<i>Extrait 2 Verveine</i>	NA	0,18 $\pm$ 0,00	0,19 $\pm$ 0,00	0,19 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,00	0,29 $\pm$ 0,00	0,48 $\pm$ 0,03	>800
<i>Extrait 3 Origan</i>	0,35 $\pm$ 0,01	0,45 $\pm$ 0,04	0,62 $\pm$ 0,02	1,03 $\pm$ 0,10	1,20 $\pm$ 0,33	1,64 $\pm$ 0,03	2,38 $\pm$ 0,03	32,34 $\pm$ 2,67
<i>Extrait 4 Thymus</i>	0,43 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,01	0,82 $\pm$ 0,05	1,12 $\pm$ 0,07	1,58 $\pm$ 0,05	1,88 $\pm$ 0,14	2,11 $\pm$ 0,10	24,26 $\pm$ 0,05
<b>BHA</b>	1,12 $\pm$ 0,05	1,95 $\pm$ 0,31	3,14 $\pm$ 0,46	3,58 $\pm$ 0,42	3,35 $\pm$ 0,20	3,77 $\pm$ 0,19	3,92 $\pm$ 0,13	5,35 $\pm$ 0,71
<b>BHT</b>	1,41 $\pm$ 0,03	2,22 $\pm$ 0,05	2,42 $\pm$ 0,02	2,50 $\pm$ 0,01	2,56 $\pm$ 0,05	2,86 $\pm$ 0,07	3,38 $\pm$ 0,13	8,97 $\pm$ 3,94

$A_{0,5}$  : concentration à l'absorbance 0,50.



**Figure 189 : Capacité antioxydante par réduction du cuivre des quatres extraits d'HEs étudiés**



Les résultats de l'évaluation du potentiel antioxydant des quatre extraits d'HEs étudiés obtenues par différentes méthodes sont synthétisés et résumés dans le tableau 75.

**Tableau 75 : activité antiradicalaire des huiles essentielles vs antioxydants témoins**

EXTRAITS	Valeur des concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )*			
	CI <sub>50</sub>			A <sub>0,50</sub>
	GOR	ABTS <sup>+</sup>	DPPH	CUPRAC
HE <i>E. globulus</i>	>800	>800	>800	>800
HE <i>A. triphylla</i> .	>800	>800	>800	>800
HE <i>O. vulgare</i>	>800	5,00 $\pm$ 0,25	>800	32,34 $\pm$ 2,67
HE <i>T. capitatus</i>	>800	6,00 $\pm$ 0,01	>800	24,26 $\pm$ 0,05
<b>STANDARDS</b>				
Trolox	4,31 $\pm$ 0,05	-	-	-
Ac. ascorbique	5,02 $\pm$ 0,01	-	-	-
BHT	-	1,29 $\pm$ 0,30	6,14 $\pm$ 0,41	5,35 $\pm$ 0,71
BHA	-	1,81 $\pm$ 0,10	12,99 $\pm$ 5,17	8,97 $\pm$ 3,94
Alpha-TOCO	-	-	13,02 $\pm$ 5,17	-
*Valeur moyenne $\pm$ ET (n=3) ; BHT : Butylhydroxytoluene- ; BHA : ButylHydroxyAnisole- ; Alpha-TOCO : Alpha-tocopherol.				

Une lecture préliminaire des résultats montrent qu'aux doses utilisées, les HEs d'*O. vulgare* et de *T. capitatus* possèdent une activité antioxydante importante, comme le montrent les valeurs des concentrations (CI<sub>50</sub> et A<sub>0,50</sub>) obtenues par les deux méthodes (ABTS<sup>+</sup>, CUPRAC). Pour le test ABTS<sup>+</sup>, les HEs d'*O. vulgare* et de *T. capitatus* ont exhibé des CI<sub>50</sub> de 5,0 et 6,0  $\mu\text{g/mL}$ , respectivement. Ces valeurs ne sont pas loin de celles du BHT (CI<sub>50</sub> = 1,29  $\mu\text{g/mL}$ ) et BHA (CI<sub>50</sub> = 1,81  $\mu\text{g/mL}$ ). Concernant le deuxième test, le CUPRAC, les HEs d'*O. vulgare* et de *T. capitatus* ont montré une activité inhibitrice du CUPRAC (A<sub>0,50</sub> = 32,34 et 24,26  $\mu\text{g/mL}$ , moins importante de celles des standards, BHT (8,97  $\mu\text{g/mL}$ ) et BHA (5,35  $\mu\text{g/mL}$ ). Toutefois, l'activité antiradicalaire enregistrée avec les deux autres tests (GOR, DPPH) étaient faibles relativement à celles obtenues par les méthodes précédentes (ABTS<sup>+</sup>, CUPRAC). Ainsi sur le test GOR, à la concentration maximale de 800  $\mu\text{g/mL}$ , les HEs d'*O. vulgare* et de *T. capitatus* ont inhibé seulement 40,59 et 41,04% des radicaux libres, respectivement. Les mêmes HEs avec la même concentration

maximale, c'est-à-dire. 800 µg/mL, ont produit des activités inhibitrices sur les radicaux DPPH, évaluées à seulement 34,29 et 39,66%, respectivement.

Les autres HEs testées, en l'occurrence celles d'*E.globulus* et d'*A.triphylla*, n'ont pas montrées d'activité inhibitrice sur les quatre tests (GOR, DPPH, ABTS, CUPRAC). Les pourcentages d'inhibition des radicaux enregistrés à la concentration maximale testée de 800µg/mL sont faibles.

La recherche d'antioxydants naturels ayant la vertu d'être non toxique a donné lieu à un grand nombre d'études sur le potentiel antioxydant des HEs. Une pléthore de données issues de la recherches scientifique, notamment de l'expérimentation *in vitro*, soutiennent le potentiel antioxydant des HEs [400]. Ceci est particulièrement pertinent parce que la plupart des antioxydants synthétiques courants (tels que butylhydroxyanisole (BHA) ou butylhydroxytoluène (BHT)) sont soupçonnés d'être potentiellement nocifs pour l'homme [401, 402].

Pour rationaliser le mécanisme de l'activité antioxydante exprimée par les huiles essentielles, il convient d'aborder brièvement leur composition. Malgré la grande diversité chimique observée, les principaux composants des huiles essentielles courantes peuvent être classés en deux familles, structurellement parlant par rapport au squelette hydrocarboné : les terpénoïdes et phénylpropanoïdes [56].

Les huiles essentielles (HEs) peuvent contenir différents composés organiques qui possèdent dans leurs structures des doubles liaisons carbonées conjuguées, ainsi que des groupes hydroxyle, qui peuvent donner de l'hydrogène, brisant la chaîne du processus oxydative, en inhibant les radicaux libres à l'étape de propagation et minimisant ainsi le stress oxydatif [403]. En général, les composés phénoliques, terpénoïdes ou phénylpropanoïdes (ex. thymol, carvacrol, eugénol, gaiacol, umbelliférone) sont les prototypes d'antioxydants briseurs de chaîne « *chain-breaking antioxidants* » à l'étape de propagation en raison de leur grande réactivité avec les radicaux peroxydes (ROO•).

D'autres composants terpénoïdes non phénoliques, possédant une structure cyclo-hexadiéniques (ex.  $\gamma$ - et  $\alpha$ -terpinènes,  $\alpha$ -phellandrène, zingibérène), peuvent aussi réagir rapidement avec les radicaux peroxydes (ROO•). Ces composés terpéniques se comportent comme des antioxydants, bien qu'ils n'entrent pas dans la catégorie précédente des composés phénoliques. Ils ne peuvent pas être définis comme des antioxydants briseurs de chaîne (à l'image des phénols) car les produits de leur réaction avec les radicaux peroxyde accélèrent la phase finale ou terminale du processus oxydative. On parle alors de « *termination-enhancing antioxidants* » [403].

Dans notre étude, quatre huiles essentielles ont fait l'objet d'une évaluation de leur potentiel antiradicalaire sur quatre modèles expérimentaux. Nous avons déterminé la capacité de piégeage des radicaux libres des HEs sélectionnés par le test GOR, DPPH, ABTS, et la capacité réductrice du Cu (II) en Cu (I) en utilisant le test CUPRAC. Ces méthodes complémentaires sont largement utilisées pour déterminer les capacités antioxydantes des extraits de plantes car elles nécessitent un équipement relativement standard et délivrent des résultats rapides et reproductibles [404, 405].

Les huiles essentielles étudiées sont regroupées, chimiquement parlant, en deux catégories : d'une part, le *T.capitatus* et l'*O.vulgare*, et d'autre part, l'*E.globulus* et l'*A.triphyllo*.

Les résultats des tests antioxydants ont montré que seules les huiles essentielles d'*O.vulgare* et *T. capitatus* possèdent des capacités antioxydantes démontrées sur les deux tests ABTS<sup>+</sup> et CUPRAC ; alors que les résultats obtenues avec les deux autres tests GOR et DPPH n'étaient pas concluants ; et les valeurs des concentrations (CI<sub>50</sub>, A<sub>0,50</sub>) enregistrées pour les HEs d'*O.vulgare* et *T.capitatus* sont importantes, mais plus faibles que celles des antioxydants témoins (BHT, BHA).

Nos résultats sont cohérents avec ceux précédemment reportés par d'autres travaux qui suggèrent la supériorité des HEs à phénols (cas de nos deux HEs étudiées, *T.capitatus* et *O.vulgare*) par rapport aux huiles à squelettes hydrocarbonées terpéniques non polaires [406, 407]. Par ailleurs, il a été démontré que deux principaux constituants des HE de *Thymus* et d'*Origanum*, le thymol et le carvacrol, agissent comme de puissants antioxydants [408, 409]. Toutefois, les effets antioxydants produits sur les deux modèles (ABTS<sup>+</sup> et CUPRAC) restent inférieurs à ceux des antioxydants témoins utilisés.

A l'inverse des résultats obtenus avec les tests ABTS<sup>+</sup> et CUPRAC, l'évaluation de l'activité antioxydante par les tests DPPH et GOR n'a pas été concluante.

Il est utile de souligner que la protection oxydative globale offerte par une huile essentielle est principalement due à ces composants antioxydants les plus efficaces. Dans une approche simpliste, l'effet antioxydant est associé aux principaux constituants, à l'image des Lamiacées à thymol et carvacrol. C'est vrai dans certains cas, mais de nombreuses exceptions ont été observées. Généralement, l'activité antioxydante est le résultat de l'interaction entre tous les composants chimiques de l'HE (alcools, phénols et composés terpéniques et cétoniques), agissant de manière antagoniste ou de manière synergique [410]. C'est ce que suggèrent de précédents travaux sur des Lamiacées (*Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Rosmarinus*), où des nouveaux agents antioxydants ont été identifiés. Ceux-ci comprennent des diterpènes phénoliques, acides phénoliques, des biphényles et des flavonoïdes [411].

En conclusion, d'après cette étude, il ressort que la relative grande capacité antioxydante des deux HEs de Lamiacées étudiées, *T.capitatus* et *O.vulgaris*, par rapport à celles d'*E.globulus* et d'*A.triphylla* soit liée à leur richesse en phénols (71,70 % et 46,65% respectivement) et hydrocarbures cyclohexadiéniques (4,60 % et 27,48 %, respectivement). Les phénols (ex. thymol et carvacrol), et les cyclohexadiéniques (ex.  $\gamma$ - et  $\alpha$ -terpinènes) sont bien connus comme des antioxydants agissant à différents niveaux du processus oxydantif.

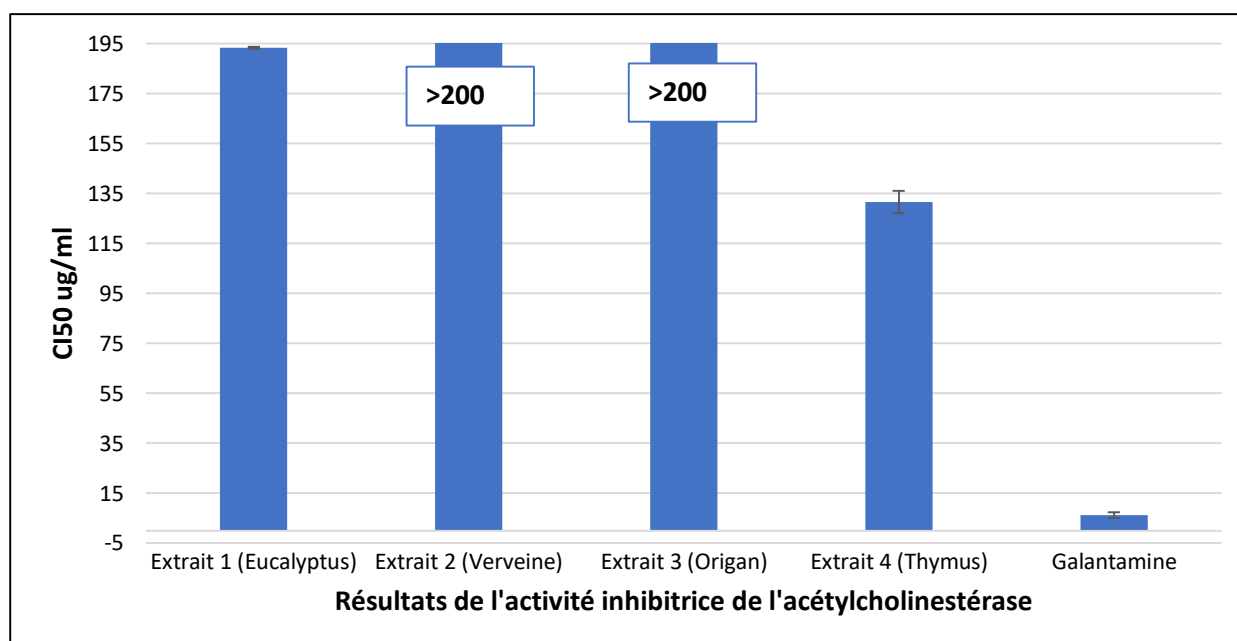
### VII.3.2.3. Evaluation de l'activité inhibitrice d'enzyme

#### VII.3.2.3.1. Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase

Les résultats de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase sont présentés dans le tableau 76 et la figure 190.

**Tableau 76 : Résultats de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase des quatre extraits d'HEs étudiés**

Extraits	Activité inhibitrice d'acétylcholinestérase							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	CI <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)
<i>Extrait 1 Eucalyptus</i>	8,09 $\pm$ 0,48	12,70 $\pm$ 2,70	17,46 $\pm$ 4,22	20,49 $\pm$ 5,11	24,39 $\pm$ 1,25	34,26 $\pm$ 0,86	52,31 $\pm$ 2,01	193,17 $\pm$ 0,37
<i>Extrait 2 Verveine</i>	NA	NA	NA	NA	13,99 $\pm$ 1,62	24,22 $\pm$ 4,32	41,68 $\pm$ 1,21	>200
<i>Extrait 3 Origan</i>	NA	NA	NA	NA	NA	19,90 $\pm$ 2,18	37,69 $\pm$ 3,88	>200
<i>Extrait 4 Thymus</i>	NA	NA	NA	17,29 $\pm$ 3,03	20,22 $\pm$ 1,22	47,87 $\pm$ 1,58	56,23 $\pm$ 1,72	131,48 $\pm$ 4,46
<b>Galantamine</b>	35,93 $\pm$ 2,28	43,77 $\pm$ 0,00	68,50 $\pm$ 0,31	80,69 $\pm$ 0,41	85,78 $\pm$ 1,63	91,80 $\pm$ 0,20	94,77 $\pm$ 0,34	6,27 $\pm$ 1,15



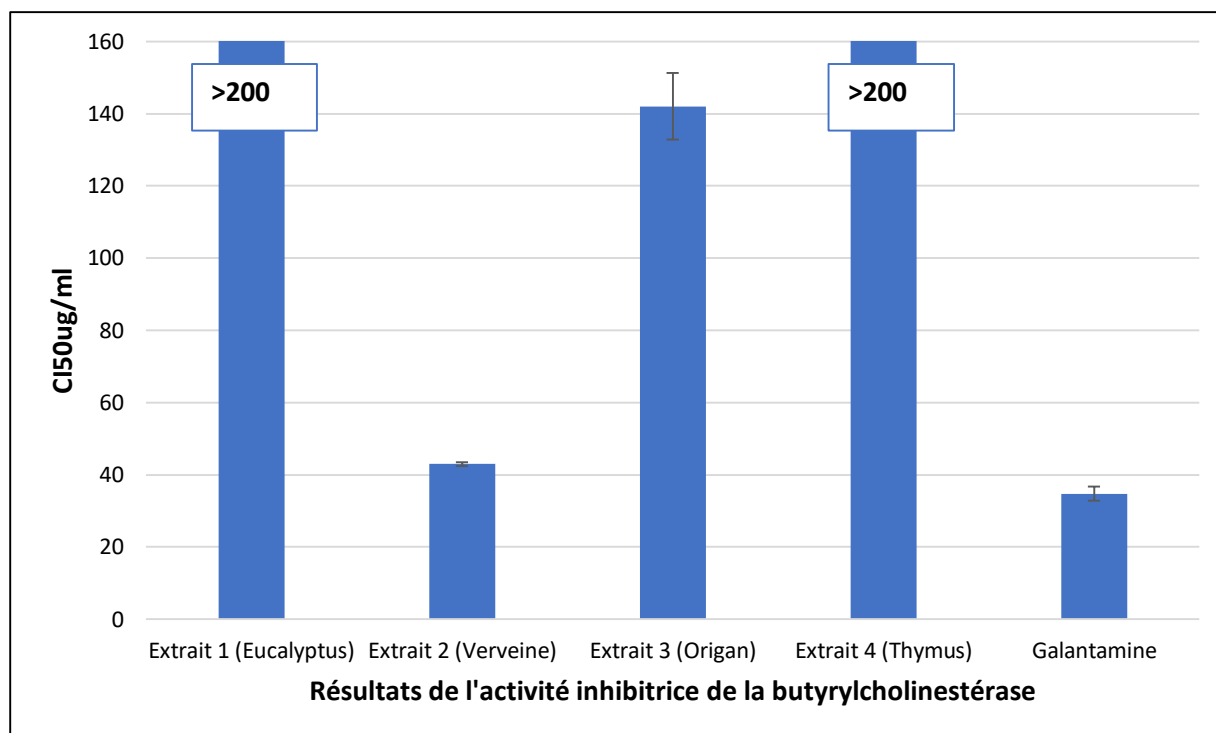
**Figure 190 : Valeurs  $CI_{50}$  des quatre extraits d'HEs étudiés dans l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase**

#### VII.3.2.3.2. *Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase*

Les résultats de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase sont présentés dans le tableau 77 et la figure 191.

**Tableau 77 : Résultats de l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase des quatre extraits d'HEs étudiés**

Extraits	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Extrait 1 Eucalyptus</i>	NA	NA	NA	NA	$35,72 \pm 3,02$	$36,52 \pm 1,26$	$47,12 \pm 0,50$	>200
<i>Extrait 2 Verveine</i>	$21,26 \pm 2,19$	$25,33 \pm 0,50$	$28,16 \pm 0,25$	$33,97 \pm 4,53$	$56,13 \pm 1,01$	$67,31 \pm 2,46$	$77,92 \pm 3,13$	$43,00 \pm 0,54$
<i>Extrait 3 Origan</i>	NA	NA	NA	$26,13 \pm 1,13$	$39,13 \pm 7,30$	$40,66 \pm 3,65$	$62,23 \pm 0,88$	$142,02 \pm 9,18$
<i>Extrait 4 Thymus</i>	NA	NA	$7,90 \pm 2,52$	$16,25 \pm 2,01$	$31,72 \pm 0,63$	$33,32 \pm 0,75$	$39,06 \pm 2,39$	>200
<b>Galantamine</b>	$3,26 \pm 0,62$	$6,93 \pm 0,62$	$24,03 \pm 2,94$	$45,13 \pm 2,60$	$63,87 \pm 2,85$	$73,57 \pm 0,77$	$78,95 \pm 0,58$	$34,75 \pm 1,99$



**Figure 191 : Valeurs CI<sub>50</sub> des quatre extraits d'HEs étudiés dans l'activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase**

Les résultats de l'évaluation de l'ensemble des activités anti-enzymatiques pratiquées sont synthétisés et résumés dans le tableau 78.

**Tableau 78 : activité inhibitrice enzymatique sur les quatre enzymes étudiées**

Extraits	Valeur des concentrations inhibitrices (CI <sub>50</sub> , µg/mL)*			
	anti-AChE	anti- BChE	anti-Tyrosinase	anti-Urease
HE <i>E.globulus</i>	193,17 ± 0,37	> 200	na	na
HE <i>A.triphylla</i>	> 200	43,00 ± 0,54	na	na
HE <i>O.vulgare</i>	>200	142,02 ± 9,18	na	na
HE <i>T.capitatus</i>	131,48 ± 4,46	> 200	na	na
<b>STANDARDS</b>				
Galantamine	06,27 ± 1,15	34,75 ± 1,99	nt	nt
Acide kojique	nt	nt	16,78± 0,00	nt
Thiourea	nt	nt	nt	11,54 ± 0,00

\*Valeur moyenne ± ET (n=3) ; AChE : Acetylcholinestérase ; BChE : butyrylcholinestérase ;  
na : pas d'absorbance ; nt : non testé.

L'activité inhibitrice de l'AChE est plus évidente dans le cas des HEs d'*E.globulus* et *T.capitatus* que les HEs d'*A.triphylla* et d'*O.vulgare*. Les valeurs des  $CI_{50}$  des HEs d'*E.globulus* et *T.capitatus* sont de 193,17 et 131,48  $\mu\text{g/mL}$ , respectivement. Pour leur part, les HEs d'*A.triphylla* et d'*O.vulgare* utilisées à la concentration maximale de 200  $\mu\text{g/mL}$  ont produit une inhibition de l'AChE évaluée à environ 40% pour les deux HEs. Le potentiel inhibiteur de ces HEs reste modeste par rapport à celui de la galantamine ( $CI_{50} = 6,27 \mu\text{g/mL}$ ).

L'évaluation de l'activité inhibitrice de la BChE a donné un résultat inverse puisque ces deux dernières (HEs d'*A.triphylla* et d'*O.vulgare*) étaient plus performantes sur la BChE que les premiers (HEs d'*E.globulus* et *T.capitatus*). L'action inhibitrice du BChE est notamment plus évidente dans le cas de l'HE d'*A.triphylla* avec une  $CI_{50}$  ( $CI_{50} = 43,00 \mu\text{g/mL}$ ), valeur relativement proche de celle de la galantamine ( $CI_{50} = 34,75 \mu\text{g/mL}$ ). Les résultats montrent aussi qu'à la concentration maximale utilisée de 200  $\mu\text{g/mL}$  pour les deux HEs, *E.globulus* et *T.capitatus*, les pourcentages d'inhibitions de la BChE étaient de 47,12 % et 39,06 % de l'AChE, respectivement. A signaler également qu'aucune action inhibitrice n'a été produite par les quatre HEs étudiées sur les enzymes Tyrosinase et Uréase.

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE) est pertinente pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA), puisque les médicaments contre la cholinestérase sont actuellement les seuls médicaments disponibles pour traiter la MA [412].

Selon certaines auteurs, les effets inhibiteurs de certaines huiles essentielles de Lamiacées (*Mentha*, *Salvia*, *Satureja*...) vis-à-vis des AChE et BChE sont à associer aux monoterpènes oxygénés, tels que le thymol, carvacrol, menthofurane,  $\gamma$ -terpinène, la rotundifolone, le menthol et la pulégone,  $\alpha$ -pinene, 1,8-cineole, camphre, linalool... etc. [413, 414, 415]. En effet, les monoterpènes oxygénés peuvent agir comme concurrents ou inhibiteurs non compétitifs des enzymes cholinestérases, avec lesquels ils peuvent interagir, du fait à leur lipophilie, sur leurs sites hydrophobes [416].

Une étude faite par Öztürk, M., 2012 a montré que parmi les monoterpènes oxygénés testés, le thymol a inhibé l'AChE et la BChE avec des valeurs  $CI_{50}$  de  $47,5 \pm 1,08 \mu\text{g/ml}$  et  $80,1 \pm 0,75 \mu\text{g/ml}$ , respectivement. Dans les mêmes conditions, les valeurs  $CI_{50}$  de carvacrol étaient de  $182 \pm 1,32$  et  $177 \pm 4,96 \mu\text{g/ml}$ , respectivement. Le  $\gamma$ -terpinène, cependant, a montré presque la même activité que celle du carvacrol contre l'enzyme AChE ( $CI_{50} = 181 \pm 1,07 \mu\text{g/ml}$ ) et une activité très proche de celle de thymol contre l'enzyme BChE ( $CI_{50} = 85,8 \pm 1,01 \mu\text{g/ml}$ ). Selon ces auteurs, l'activité anti-AChE de l'HE de *Satureja thymbra* serait liée au thymol et au carvacrol, ainsi qu'au  $\gamma$ -terpinène [414].

Selon nos résultats les HEs d'*A.triphylla* et d'*O.vulgare* se sont montrées plus actives contre la BChE. Alors que les HEs de *T.capitatus* et d'*E.globulus* ont exhibé un effet inhibiteur plus important contre l'AChE.

La composition des HEs des Lamiacées (*O.vulgare*, *T.capitatus*) contient des monoterpènes oxygénés, à l'image du thymol/carvacrol et  $\gamma$ -terpinène, comme constituants majoritaires. Toutes ces molécules sont décrites comme actives contre la cholinestérase. De même que le 1,8-cinéole dans l'HE d'*E.globulus*.

Parmi les HEs testées, celle d'*A.triphylla* s'est révélée la plus prometteuse avec un potentiel inhibiteur ( $CI_{50} = 43,00 \mu\text{g/mL}$ ) contre BChE relativement proche de celle de la galantamine ( $CI_{50} = 34,75 \mu\text{g/mL}$ ). Parmi les constituants terpéniques oxygénés identifiés dans l'HE *A. triphylla*, on retrouve le spathuléol (8,95%), du 1,8-cinéole (4,45%). Alors que l'action anti-AChE du cinéole est signalée auparavant, les recherches ont montré que le spathuléol, un alcool sesquiterpénique tricyclique, est doué d'importantes propriétés antioxydantes et antiinflammatoires [417].

Finalement, les résultats obtenus proviennent de l'expérimentation *in vitro*. Bien que certaines des HEs ont montré des capacités à inhiber dans une certaine mesure la cholinestérase, leur transposition chez l'Homme est tributaire d'autres études, notamment une expérimentation chez l'animal entier pour appréhender au mieux leur activité dans les systèmes biologiques.



## VII.4. ESSAI DE TOXICITE

Les résultats de l'essai de toxicité sont présentés dans les tableaux 79, 80 et les figures 192, 193.

**Tableau 79 : Nombre de larves survivantes par puits de microplaque en fonction de la concentration d'HE**

[Conc.]	<i>Thymus capitatus</i>			<i>Origanum vulgare</i>			<i>Eucalyptus globulus</i>			<i>Aloysia triphylla</i>			Contrôle négatif
[SM]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10
[1/2]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	10
[1/4]	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	7	3	10
[1/8]	2	0	0	1	1	0	0	0	0	8	7	7	10
[1/16]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	4	10
[1/32]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8	5	7	10
[1/64]	3	2	1	0	0	0	0	0	0	2	7	9	10
[1/128]	8	6	6	0	0	0	0	0	0	7	8	5	10

SM : Solution Mère

**Tableau 80 : Pourcentage de mortalité des larves en fonction de la concentration d'HE**

Espèces	<i>Thymus capitatus</i>				<i>Origanum vulgare</i>			
	P 01	P 02	P 03	Moyenne	P 01	P 02	P 03	Moyenne
[SM]	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
[1/2]	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
[1/4]	100%	100%	100%	100%	90%	90%	100%	93,33%
[1/8]	80%	100%	100%	93,33%	90%	90%	100%	93,33%
[1/16]	90%	100%	100%	96,66%	100%	100%	100%	100%
[1/32]	90%	100%	100%	96,66%	100%	100%	100%	100%
[1/64]	70%	80%	90%	80%	100%	100%	100%	100%
[1/128]	20%	40%	40%	33,33%	100%	100%	100%	100%
Espèces	<i>Eucalyptus globulus</i>				<i>Aloysia triphylla</i>			
	P 01	P 02	P 03	Moyenne	P 01	P 02	P 03	Moyenne
[SM]	100%	100%	100%	100%	100%	90%	100%	96,66%
[1/2]	100%	100%	100%	100%	100%	90%	90%	93,33%
[1/4]	100%	100%	100%	100%	80%	30%	70%	60%
[1/8]	100%	100%	100%	100%	20%	30%	30%	26,66%
[1/16]	100%	100%	100%	100%	20%	20%	60%	33,33%
[1/32]	100%	100%	100%	100%	20%	50%	30%	33,33%
[1/64]	100%	100%	100%	100%	80%	30%	10%	40%
[1/128]	100%	100%	100%	100%	30%	20%	50%	33,33%

SM : Solution Mère

❖ Calcul de CL 50

Selon les résultats obtenus, on constate qu'on ne peut calculer que la CL<sub>50</sub> des HEs du *Thymus capitatus* et d'*Aloysia triphylla*.

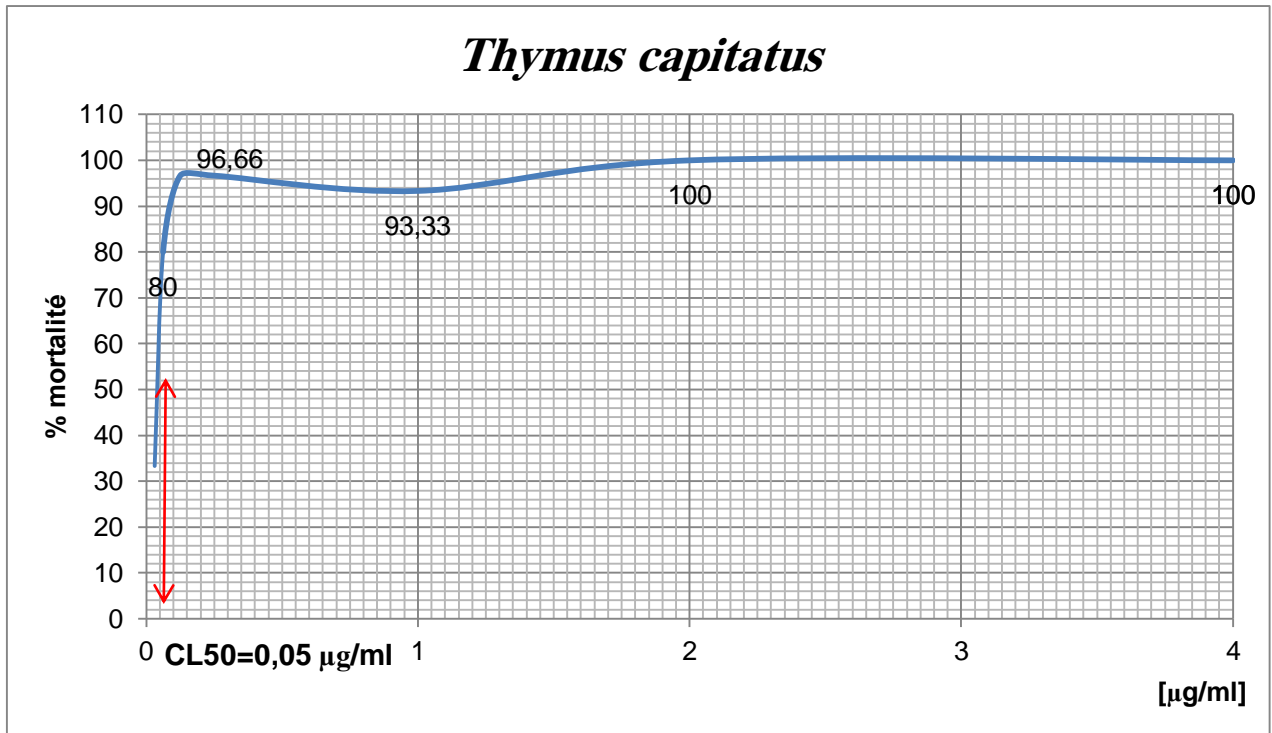


Figure 192 : Détermination de la CL<sub>50</sub> de l'HE du *Thymus capitatus*.

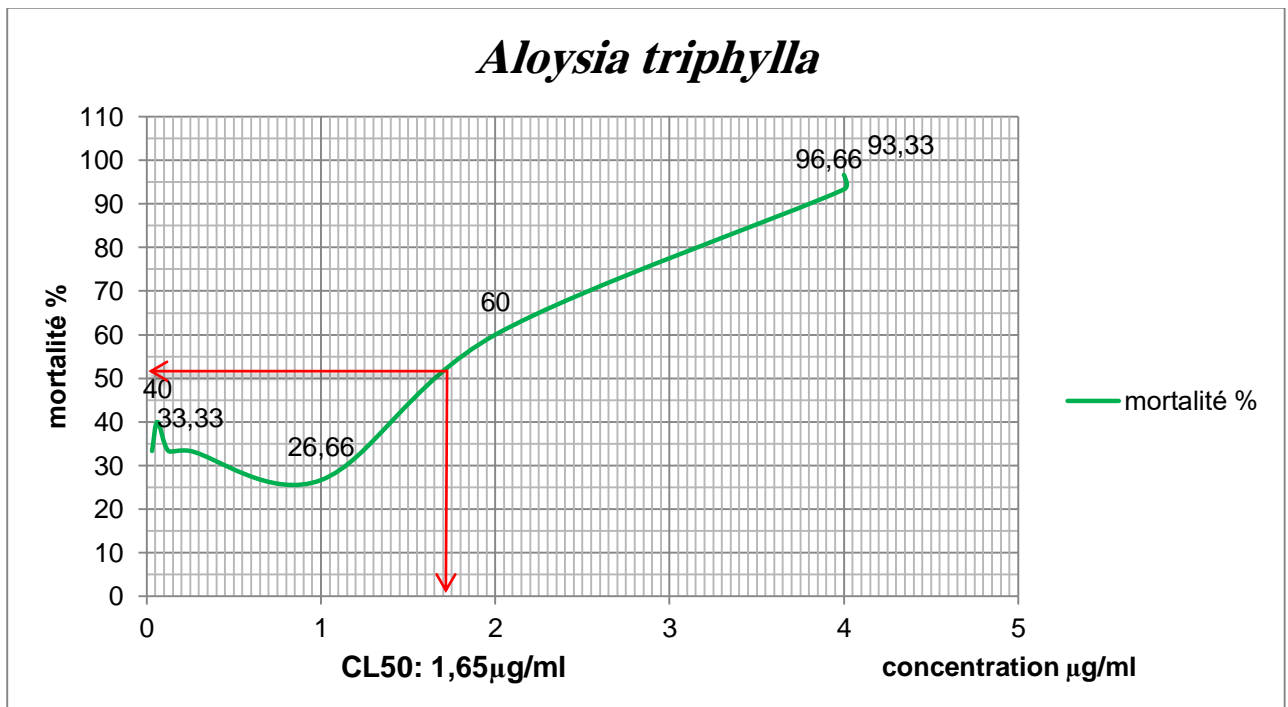


Figure 193 : Détermination de la CL<sub>50</sub> de l'HE d'*Aloysia triphylla*.

Selon la littérature et d'autres études antérieures menées sur la toxicité des HEs étudiées, on a trouvé les résultats mentionnés dans le tableau 81 ci-dessous :

**Tableau 81 : Concentration létale CL<sub>50</sub> des HEs étudiées.**

Huile essentielle	CL <sub>50</sub> (µg/mL)*	
	Notre étude	Selon la littérature
HE d' <i>E.globulus</i>	nd.	0,0095 [420]
HE d' <i>A.triphylla</i>	1,65	0,33-1,08 [419]
HE de <i>T.capitatus</i>	0,05	0,15 [418]
HE d' <i>O.vulgare</i>	nd.	0,014 [421]

nd.- non déterminée ; \*CL<sub>50</sub> > 1000 µg/mL est "non toxique", CL<sub>50</sub> = 500-1000 µg/mL est "faiblement toxique", CL<sub>50</sub> = 100-500 µg/mL est "modérément toxique", et CL<sub>50</sub> < 100 µg/mL est "fortement toxique" [329, 422].

Sur la base du test de mortalité des larves d'*Artemia salina* d'eau salée, les HEs d'*A.triphylla* et de *T.capitatus* ont montré des CL<sub>50</sub> de 1,65 et 0,05 µg/mL, respectivement. Ces valeurs indiquent que ces HE sont considérées comme fortement toxiques. Ces données sont en accord avec de précédents travaux [418, 419].

Pour leur part, une lecture préliminaire des résultats montrent qu'aux doses utilisées la toxicité des HEs d'*E.globulus* et d'*O.vulgare* n'a pu être établie.

## VII.5. TESTS « *IN SILICO* »

### VII.5.1. EVALUATION DES ACTIVITES ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANTIBACTERIENNE

#### VII.5.1.1. Etude ADMET des ligands

Avant de proposer nos composés comme étant de nouvelles molécules actives, il était indispensable de commencer notre travail par l'application de la règle de 5 de Lipinski et celle de Veber ; on a également déterminé les propriétés pharmacocinétiques.

Les mêmes propriétés ont été prédites pour les molécules à étudier ainsi que les ligands de référence (acide salicylique, méticilline et acide nalidixique) afin d'établir une comparaison.

#### ✓ *Propriétés physico-chimiques*

Selon Lipinski, tous les composés ne validant pas au moins trois des cinq conditions sont susceptibles de poser des problèmes d'absorption par voie orale. Dans notre cas, Tous les composés, répondent parfaitement aux critères de la règle de Lipinski.

Ces molécules, ont également respecté les deux critères de la règle de Veber, concernant la surface polaire qui est largement inférieure à 140 Å<sup>2</sup>, ainsi que le nombre de liaisons rotatives qui n'a pas dépassé 10. Ce qui favorise une bonne biodisponibilité orale.

On note que tous les composés ont présentés une solubilité dans l'eau plus au moins bonne. Ce qui leurs facilite le passage dans la circulation sanguine.

A propos l'accessibilité à la synthèse, tous les composés peuvent être chimiquement synthétisables selon les résultats obtenues, dont les valeurs n'ont pas dépassé l'échelle de 10.

**Tableau 82 : Règles de LIPINSKI**

Composés	Masse moléculaire	Coefficient de partition log P	Nombre de donneurs d'hydrogène	Nombre d'accepteurs d'hydrogène	Liaisons rotables
Acide salicylique	138,12	1,13	2	3	1
Acide nalidixique	232,24	1,41	1	4	2
Méticilline	380,42	1,22	2	6	6
Alpha-Pinène	136,23	2,63	0	0	0
1-8-Cinéole	154,25	2,58	0	1	0
D-Limonène	136,23	2,72	0	0	1
Carvacol	150,22	2,24	1	1	1
Thymol	150,22	2,32	1	1	1
E-Citral	152,23	3,03	0	1	4
Gamma Terpinène	136,23	4,50	0	0	1

Tableau 83 : Propriétés physicochimiques

Composés	Poids moléculaire (g/mol)	Tpsa Å <sup>2</sup>	Règle de Lipinski	Règle de Veber	Solubilité dans l'eau	Accessibilité de synthèse
Méticline	380,42	130,47	OUI	OUI	Soluble	4,08
Acide nalidixique	232,24	72,19	OUI	OUI	Soluble	1,94
Acide salicylique	138,12	57,53	OUI	OUI	Soluble	1,00
Alpha-Pinène	136,23	0,00	OUI	OUI	Soluble	4,44
1-8-Cinéole	154,25	9,23	OUI	OUI	Soluble	3,65
D-Limonène	136,23	0,00	OUI	OUI	Soluble	3,46
Carvacol	150,22	20,23	OUI	OUI	Soluble	1,00
Thymol	150,22	20,23	OUI	OUI	Soluble	1,00
E-Citral	152,23	17,07	OUI	OUI	Soluble	2,49
Gamma Terpinène	136,23	0,00	OUI	OUI	Soluble	3,11

✓ *Propriétés pharmacocinétiques*

Il est indispensable de faire une analyse des propriétés pharmacocinétiques afin d'affirmer notre sélection et d'aller vers le ou les composés ayant le plus de chance d'être un médicament candidat.

Tableau 84 : Propriétés pharmacocinétiques

Composés	GI absorption	BBB Perméabilité	P-gp substrat	CYP1A2 inhibition	CYP2C19 Inhibition	CYP2C9 Inhibition	CYP2D6 Inhibition	CYP3A4 inhibition
Méticline	Elevé	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
Acide nalidixique	Elevé	Négative	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
Acide salicylique	Elevé	Positive	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
Alpha-Pinène	Faible	Positive	Négative	Négative	Négative	Posétive	Négative	Négative
1-8-Cinéol	Elevé	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
D-Limonène	Faible	Positive	Négative	Négative	Négative	Posétive	Négative	Négative
Carvacol	Elevé	Positive	Négative	Positive	Négative	Négative	Négative	négative
Thymol	Elevé	Positive	Négative	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative
E-Citral	Elevé	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
Alpha Pinène	Elevé	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative
Gamma Terpinène	Faible	Positive	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative	Négative

- Comme pour les médicaments de références, une absorption gastro-intestinale élevée a été constatée pour tous les composés, sauf pour le gamma-Terpinene, D-Limonène et Alpha-Pinène.
- Pour la perméabilité hématoencéphalique, contrairement à la méticilline et l'acide nalidixique tous les composés passent la barrière hématoencéphalique, ce qui nous renseigne ainsi sur leur bon passage à travers les différentes membranes de l'organisme.
- Tous les composés ne se fixent pas la glucoprotéine P.
- La plupart des composés n'inhibent pas les différentes isoformes du cytochrome, sauf l'alpha Pinene (inhibe CYP2C9) et Carvacol, Thymol (inhibes CYP1A2).

Nous avons pris WLogP et XLogP3 (valeurs de LogP atomistes), qui se sont avérées être les plus pertinents pour la LogP expérimentale (Pyka et coll., 2006). Le XLogP3 des composés varie de 2,24 à 4,50, tandis que WLogP varie de 2,74 à 3,31. Le score de biodisponibilité prévue par le serveur est de 0,55 qui est équivalent à la biodisponibilité prévue des anti-inflammatoires et antibiotiques de références (par exemple, l'acide salicylique : XLogP 2.26, acide nalidixique XLogP 1.41 et méticilline XLogP 1.22), Le score de biodisponibilité pour la méticilline : 0,56 et 0,85 pour l'acide salicylique et l'acide nalidixique.

#### ✓ Toxicité aiguë

Dans le but de vérifier la toxicité des composés proposés, plusieurs paramètres ont été déterminés in silico. Parmi eux, le test d'Ames qui nous renseigne sur la génotoxicité.

**Tableau 85 : Tests de toxicité**

Molécules / Tests	algae_at	Ames_test	Carcino_Rat	medaka_at	hERG_inhibition	minnow_at
Méticilline	0,052545	Mutagène	négative	0,19914	Faible risque	0,214718
Acide nalidixique	0,117296	Mutagène	positive	0,343632	Faible risque	0,220638
Acide salicylique	0,116565	Mutagène	négative	0,50856	Faible risque	0,180634
Alpha-Pinène	0,0309633	Mutagène	négative	0,107397	Risque moyen	0,107843
1-8-Cinéol	0,0415166	Mutagène	positive	0,435724	Risque moyen	0,352191
D-Limonène	0,0258016	Mutagène	négative	0,0951609	Risque moyen	0,0065028
Carvacol	0,0271523	Mutagène	négative	0,207787	Faible risque	0,02686
Thymol	0,0270435	Mutagène	négative	0,207787	Faible risque	0,0267692
E-Citral	0,03536	Mutagène	positive	0,291828	Faible risque	0,0365857
Gamma Terpinène	0,0250542	Mutagène	positive	0,060081	Risque moyen	0,0408168

Comme les médicaments de références, tous nos composés présentent un effet mutagène qui se traduit par leur possibilité à induire des modifications au niveau du matériel génétique.

Le pouvoir cancérogène des composés a été également vérifié. On note un résultat négatif pour la plupart des composés sauf exception : E-Citral, Gamma Terpinène et 1-8-Cinéole.

Concernant le test d'inhibition du gène hERG, les mêmes résultats ont été démontrés pour la totalité des composés, témoignant ainsi un risque faible ou moyen vis-à-vis de l'arythmie cardiaque.

Les résultats des tests utilisant les espèces aquatiques citées dans le tableau 85, montrent que tous les composés présentent un taux inférieur à celui révélé par l'acide nalidixique et l'acide salicylique.

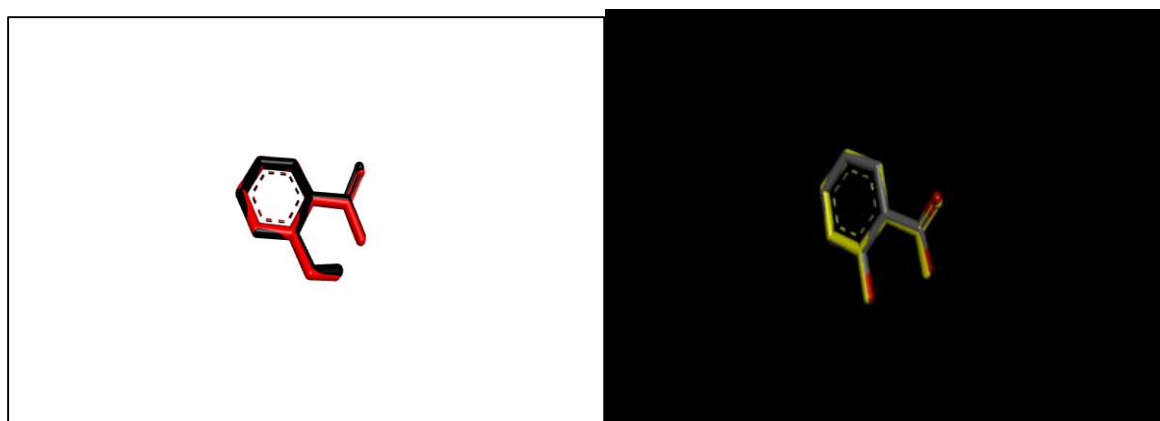
En conclusion, la plupart des composés proposées pour le filtrage ADME / tox répondent favorablement à l'ensemble de critères, ce qui ouvre la voie à l'optimisation de ces molécules.

#### VII.5.1.2. Test de fiabilité du programme Auto Dock 4.2

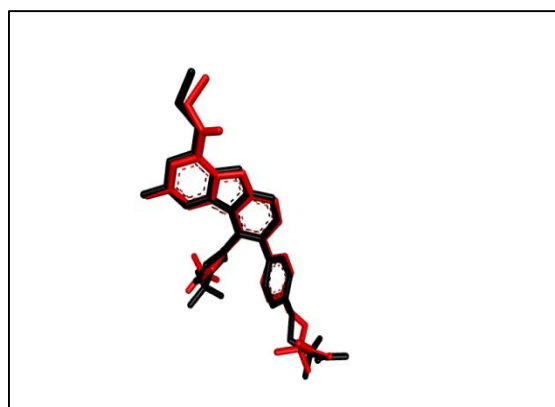
Avant d'aborder l'étude de l'inhibition des différentes protéines cibles, on a jugé utile d'évaluer tout d'abord la performance de l'Auto dock 4.2 utilisé dans cette étude en faisant appel à l'analyse visuelle et au calcul du RMSD.

##### ✓ *L'analyse visuelle*

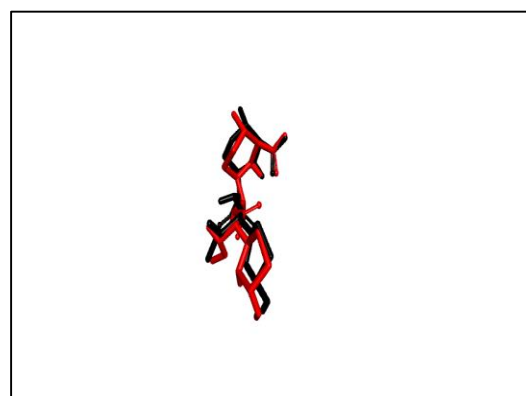
Le redocking consiste à tenter de repositionner un ligand dans son site de liaison à partir du complexe L-R correspondant, duquel le composé a été préalablement extrait. En d'autres termes, un site apte à lier le ligand que l'on souhaite docker est préparé à partir du complexe L-R d'intérêt, d'où l'appellation "redocking". L'analyse visuelle est une étape indispensable pour valider le protocole de docking ; elle permet de montrer si la pose simulée d'un ligand se superpose avec celle de référence. Dans notre cas, la figure 194 montre qu'on a une bonne superposition de pose simulée par autodock (colorée en noir) et celle du ligand naturel "acide salicylique" (colorée en jaune).



5f1a



6m1s



3vsl

**Figure 194 : Superposition des conformations obtenues par ligands natifs (colorés en rouge) et par docking moléculaire avec AutoDock (colorés en noir)**

✓ **RMSD** : *L'écart quadratique moyen (root mean square deviation).*

Avant de réaliser l'étude d'amarrage moléculaire, le protocole d'amarrage a été validé. Les ligands sélectifs co-cristaux ont donc été retirés des complexes protéiques-ligands cristallisés énumérés dans le PDB et de nouveau docker dans le site de liaison des protéines. La déviation quadratique moyenne (RMSD) des ligands dans les conformations complexes de co-cristaux et les conformations les mieux ancrées étaient inférieures à 2Å (Tableau 86). La plupart des ligands présentaient des écarts négligeables. Cela indique la capacité du protocole d'amarrage à reproduire les modes d'interactions et les orientations des ligands de co-cristaux.

**Tableau 86 : les 4 complexes utilisés pour tester la fiabilité du protocole de docking par Auto dock 4.2**

Code de l'enzyme	Code de l'inhibiteur	RMSD (Å <sup>0</sup> )
6m1s	EZ9	1,72
3vsl	CEF	1,86
5f1a	SAL	0,86



### VII.5.1.3. Evaluation de l'activité antiinflammatoire

#### VII.5.1.3.1. Etude de l'interaction 5f1a- acide salicylique

Lors du docking moléculaire, le score et la constante d'inhibition de l'acide salicylique est de (-5,92Kcal/Mole et 45,48 uM). L'interaction de l'acide salicylique avec la 5f1a est visualisée par *Discovery studio*. L'acide salicylique inhibe la COX2 en formant de nombreuses interactions hydrophobiques précisément avec les résidus MET 522 et LEU 352.

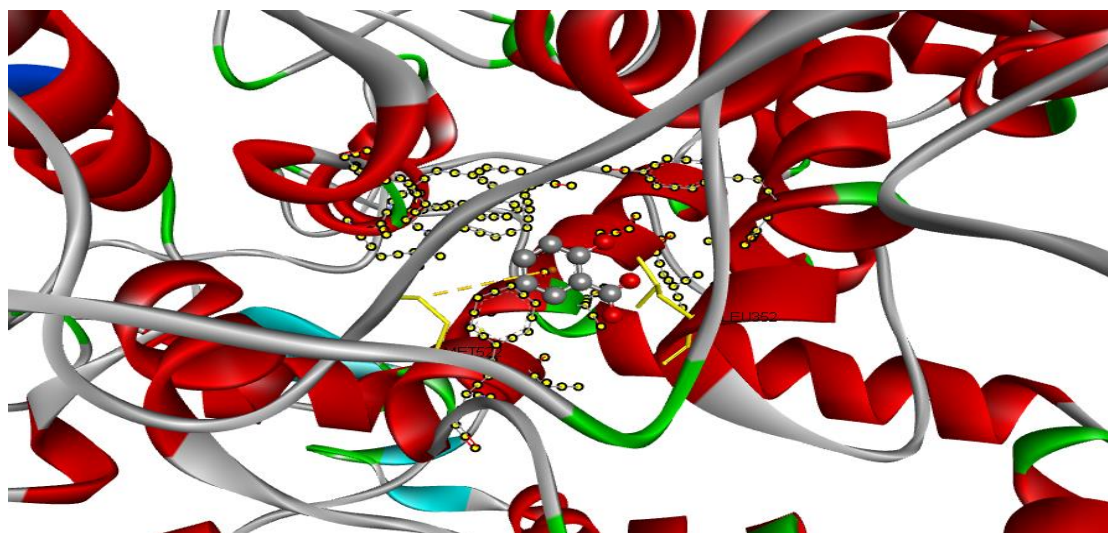


Figure 195 : Structure 3D d'interaction de l'acide salicylique avec le site actif du 5f1a

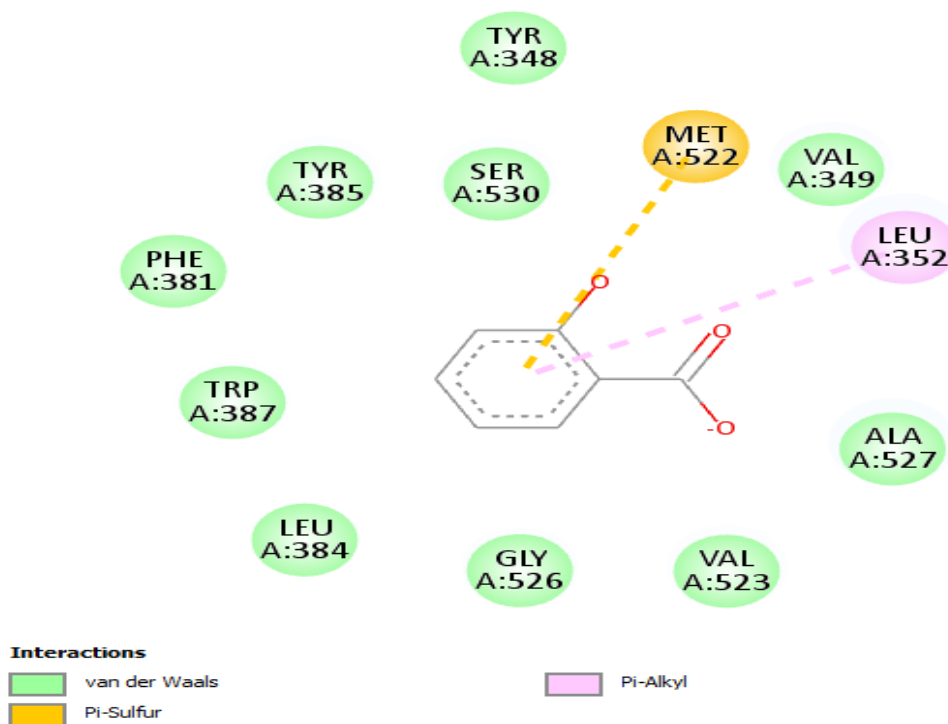


Figure 196 : Structure 2D d'interaction de l'acide salicylique avec le site actif du 5f1a

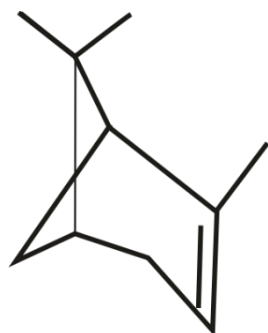
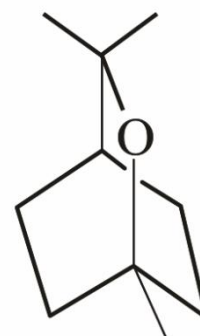
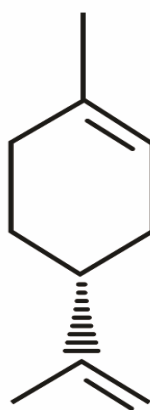
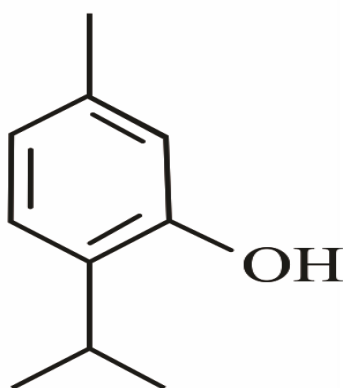
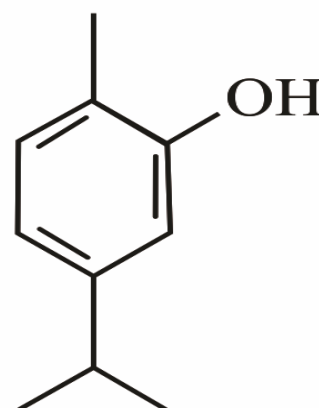
**VII.5.1.3.2. Amarrage moléculaire d'une collection de molécules**

Dans le but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des deux principaux composés des extraits d'HEs des plantes étudiées (l'*Aloysia triphylla* : D-Limonène + E-Citral ; le *Thymus capitatus* : Thymol + Carvacrol ; l'*Origanum vulgare* : Thymol + gamma Terpinène ; l'*Eucalyptus globulus* : 1,8-Cinéol + alpha Pinène). Alors, nous avons étudié l'activité inhibitrice de ces molécules vis-à-vis la 5f1a.

Le docking moléculaire de ces molécules avec la COX2, a permis de calculer leur énergie d'interaction et leur constante d'inhibition (Ki) (Tableau 87).

**Tableau 87 : Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire (activité antiinflammatoire)**

Molécules	N°	$\Delta G$ (Kcal/Mole)	Constante d'inhibition (Ki)
Alpha-pinene	1	-6,34	22,52
1-8-cineol	2	-6,30	23,94
D-limonene	3	-6,10	33,60
Carvacol	4	-6,01	39,25
Thymol	5	-5,98	44,09
E-Citral	6	-5,66	70,52
Gamma-terpinene	7	-5,65	72,09

**Alpha-pinène****1-8-cineol****D-limonène****Thymol****Carvacol****Figure 197 : Structures chimiques des meilleurs inhibiteurs**

#### *VII.5.1.3.3. Etude d'interaction des meilleurs analogues*

Les résultats de docking moléculaire de ces molécules révèlent une diminution significative de l'énergie d'interaction et de la constante d'inhibition ( $K_i$ ) par rapport à celle de l'acide salicylique. Prouvant ainsi une amélioration de leur activité inhibitrice vis-à-vis de la 5fla. L'analyse visuelle de ces composés montre qu'ils sont bien placés dans le site actif de la 5fla.

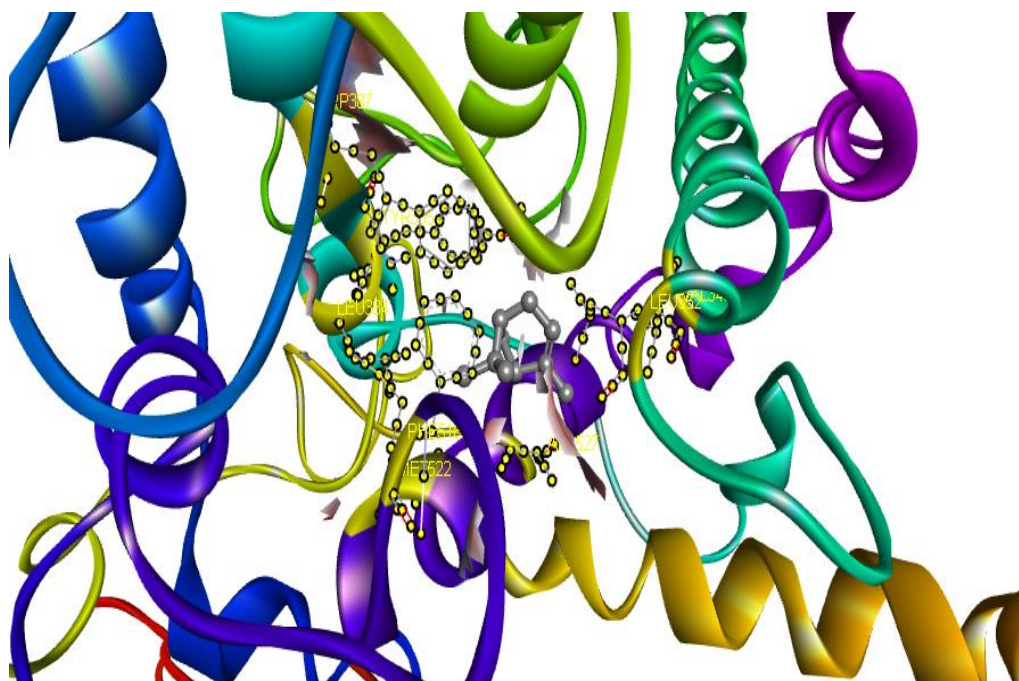
VII.5.1.3.3.1. Visualisation de l'alpha-Pinène

Figure 198 : Représentation 3D d'interaction de l'alpha-Pinène avec le site actif de 5f1a

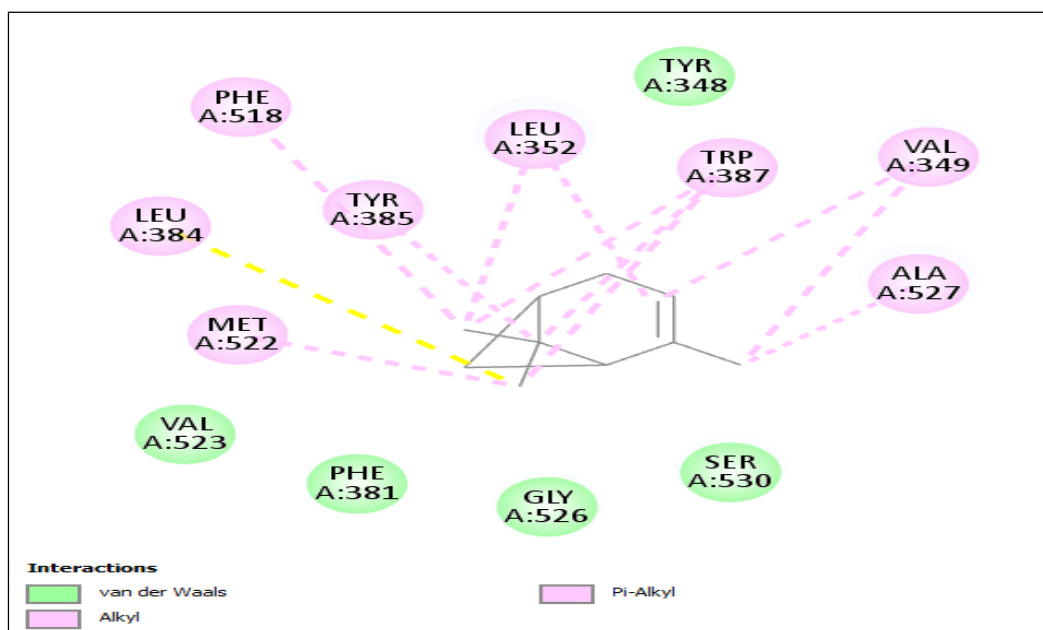


Figure 199 : Représentation 2D d'interaction de l'alpha-Pinène avec le site actif de 5f1a

-Interprétation des résultats

L'analyse visuelle montre que ce composé inhibe la COX2 en formant de nombreuses interactions hydrophobiques précisément avec les résidus **MET522** et **LEU 352** qui sont aussi engagé avec l'acide salicylique et stabilisé par d'autre interactions avec les résidus, **ALA527**, **VAL349**, **TRP387**, **TYR352** **TYR385** **PHE518** **LEU384** du site actif de l'enzyme.

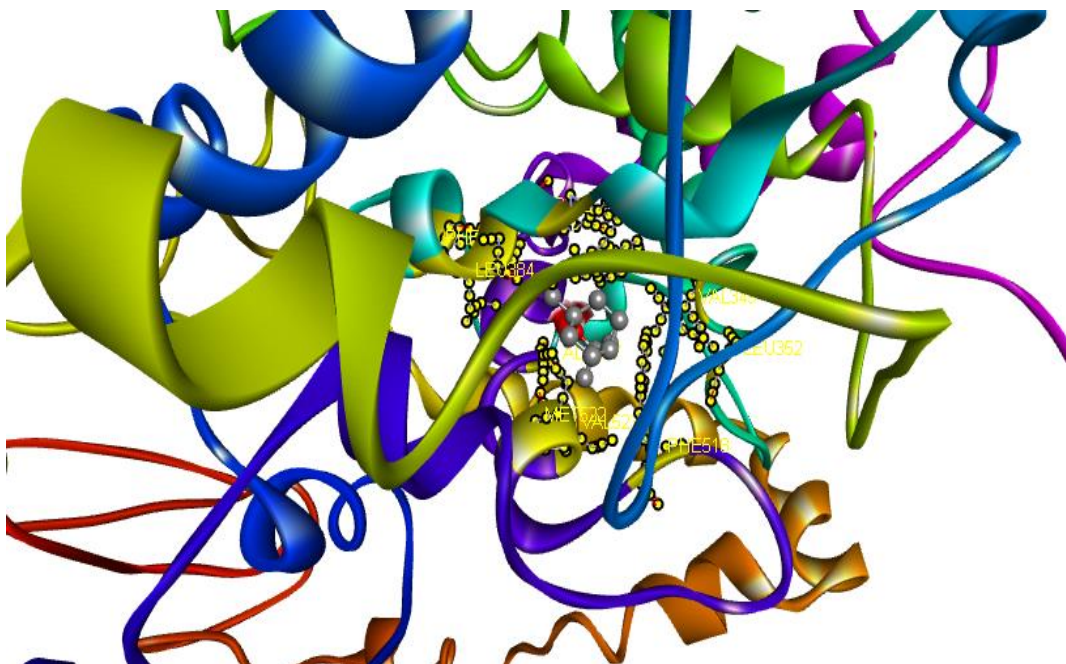
VII.5.1.3.3.2. Visualisation de 1-8-Cinéole

Figure 200 : Représentation 3D d'interaction de 1-8-Cinéole avec le site actif de 5f1a

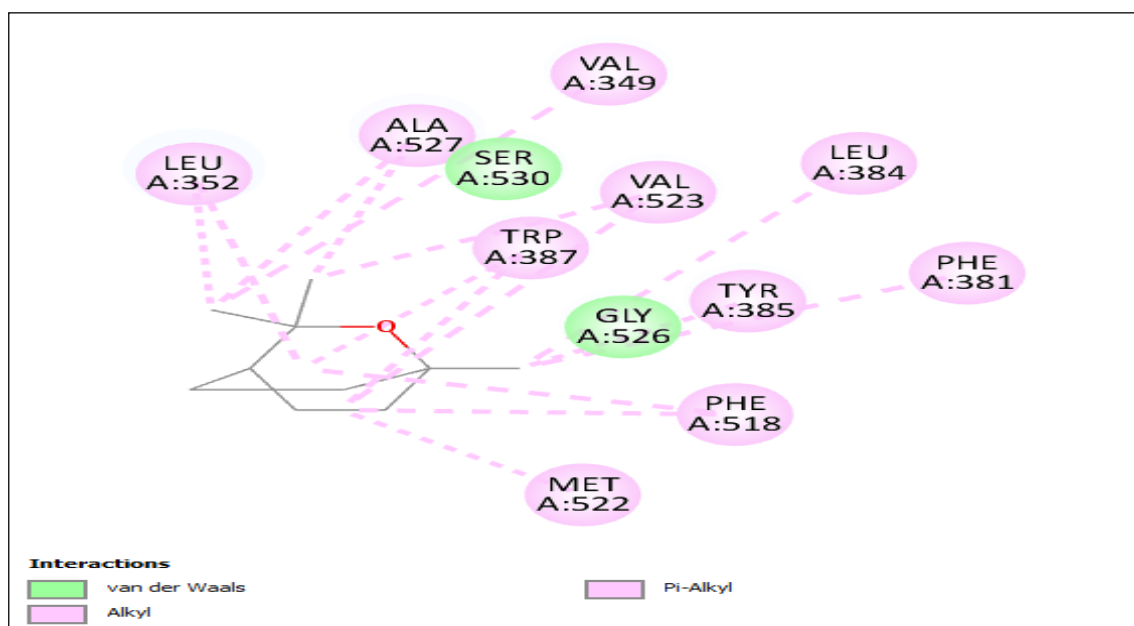


Figure 201 : Représentation 2D d'interaction de 1-8-Cinéole avec le site actif de 5f1a

-Interprétation des résultats

L'amarage réalisé par autodock 4 fait ressortir le 1-8-Cinéole en deuxième position. Son score s'évaluant à -6.30 kcal/mol résulte de la mise en place de nombreuses interactions de type hydrophobe faisant intervenir les résidus **MET522**, **LEU352**, **ALA527**, **VAL349**, **VAL523**, **TRP387**, **LEU384**, **TYR385**, **PHE381**, **PHE518** de la cyclooxygénase-2.



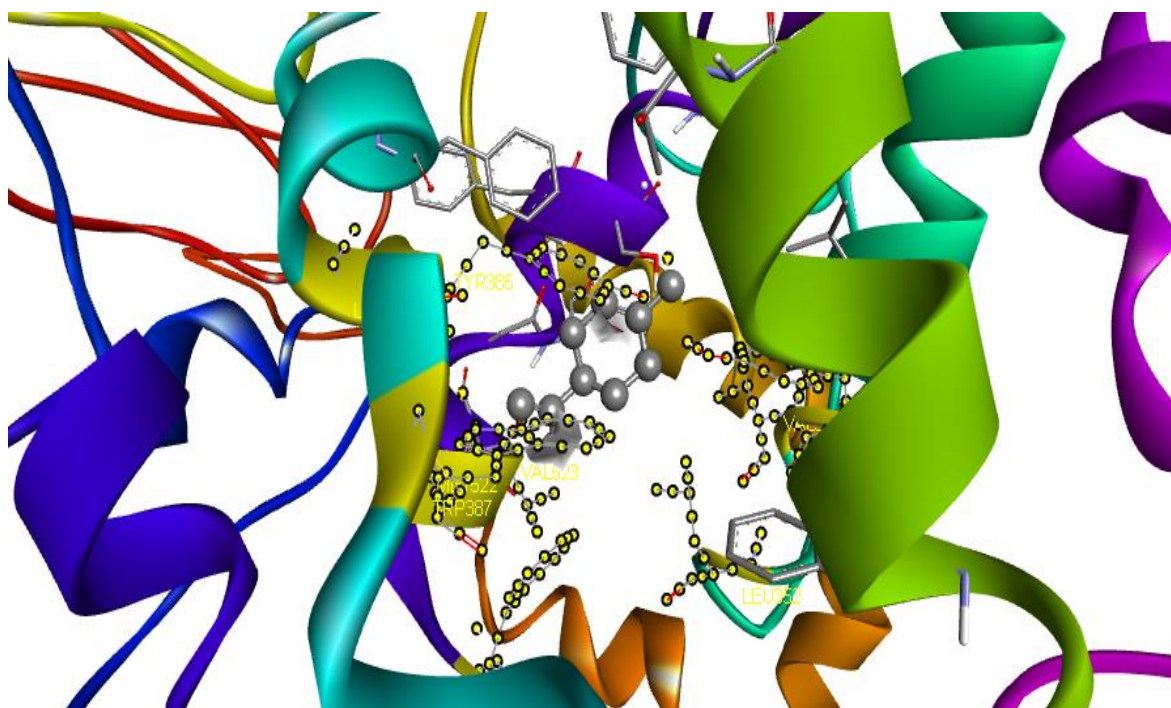
VII.5.1.3.3. Visualisation de la D-Limonène

Figure 202 : Représentation 3D d'interaction de la D-Limonène avec le site actif de 5f1a

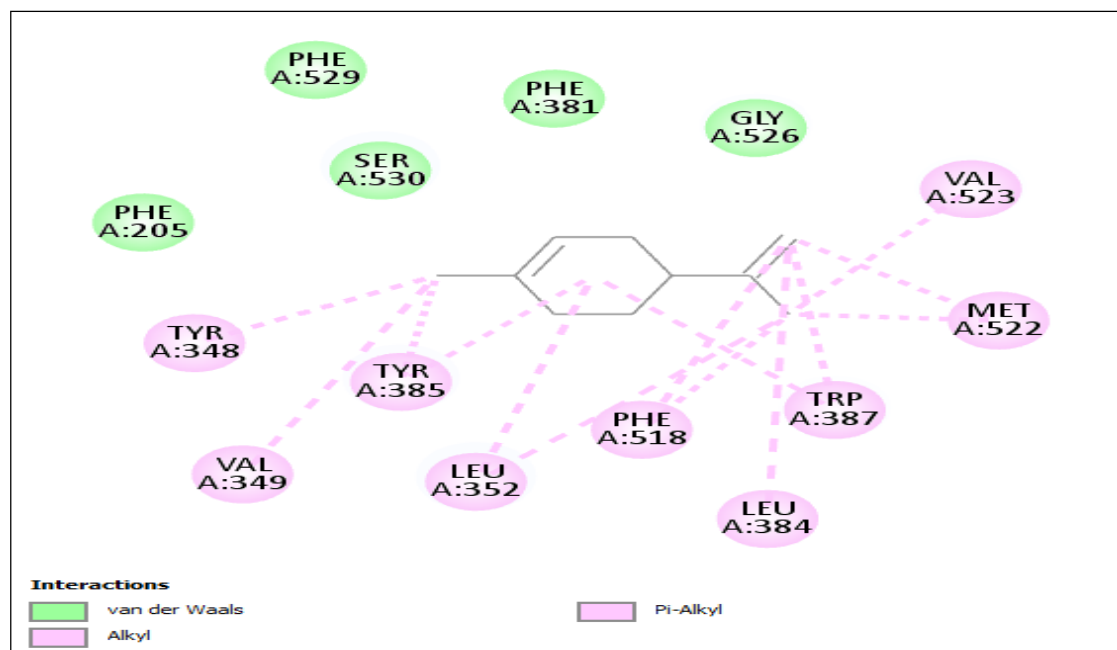


Figure 203 : Représentation 2D d'interaction de la D-Limonène avec le site actif de 5f1a

-Interprétation des résultats

Le complexe **5f1a-D-limonene** est inhibé par la formation des liaisons de type hydrophobiques précisément avec les résidus **MET522, LEU352, TRP387, LEU384, PHE518, TYR385, VAL349, TYR348** et **VAL523** du site actif de l'enzyme.

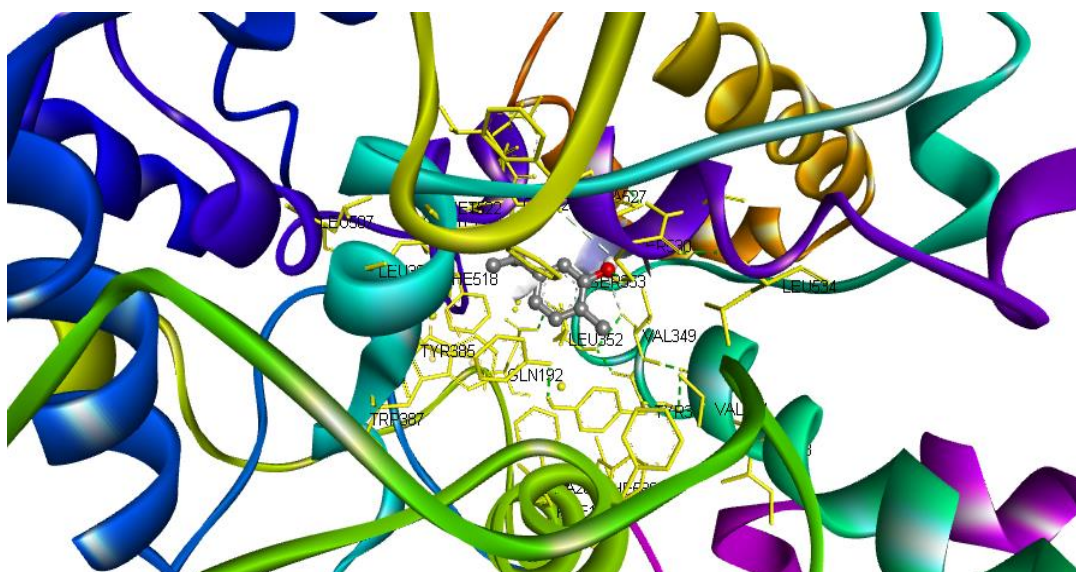
VII.5.1.3.3.4. Visualisation de Carvacol

Figure 204 : Représentation 3D d'interaction du Carvacol avec le site actif de 5f1a

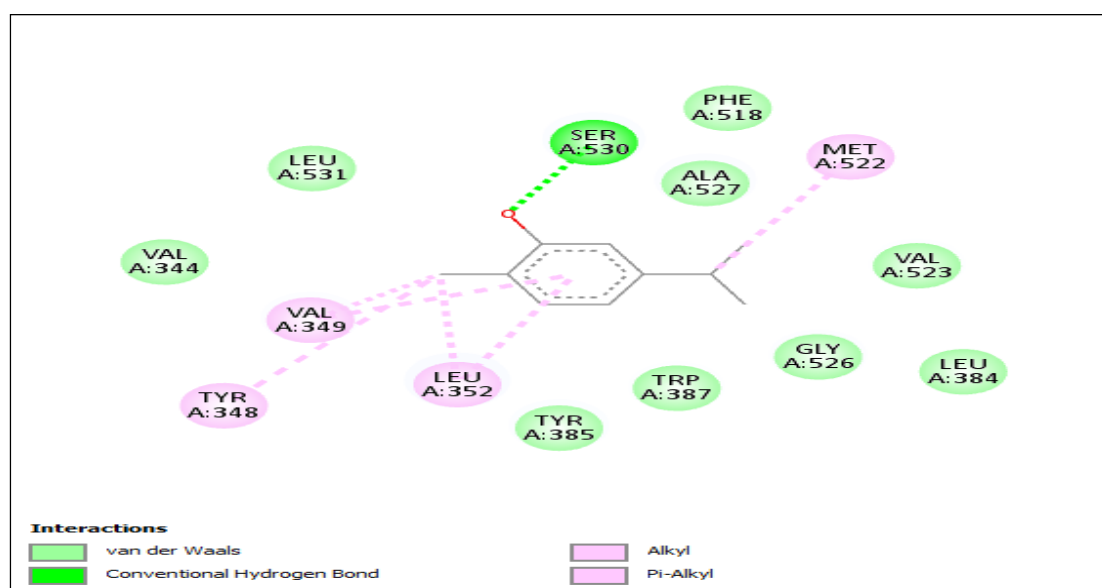


Figure 205 : Représentation 2D d'interaction du Carvacol avec le site actif de 5f1a

-Interprétation des résultats

L'analyse visuelle pour le carvacol montre la présence d'une seule liaison hydrogène formée avec le résidu SER530 très engagé par des inhibiteurs sélectifs dans l'inhibition de la cyclooxygénase de distance 1.76 Å.

Il faut également souligner l'intervention des résidus **MET522**, **LEU352**, **VAL349**, **TYR348**, dans la stabilité du complexe 5f1a-carvacol en permettant la formation de nombreuses interactions de type hydrophobe.

VII.5.1.3.3.5. Visualisation du Thymol

Figure 206 : Représentation 3D d'interaction du Thymol avec le site actif de 5f1a

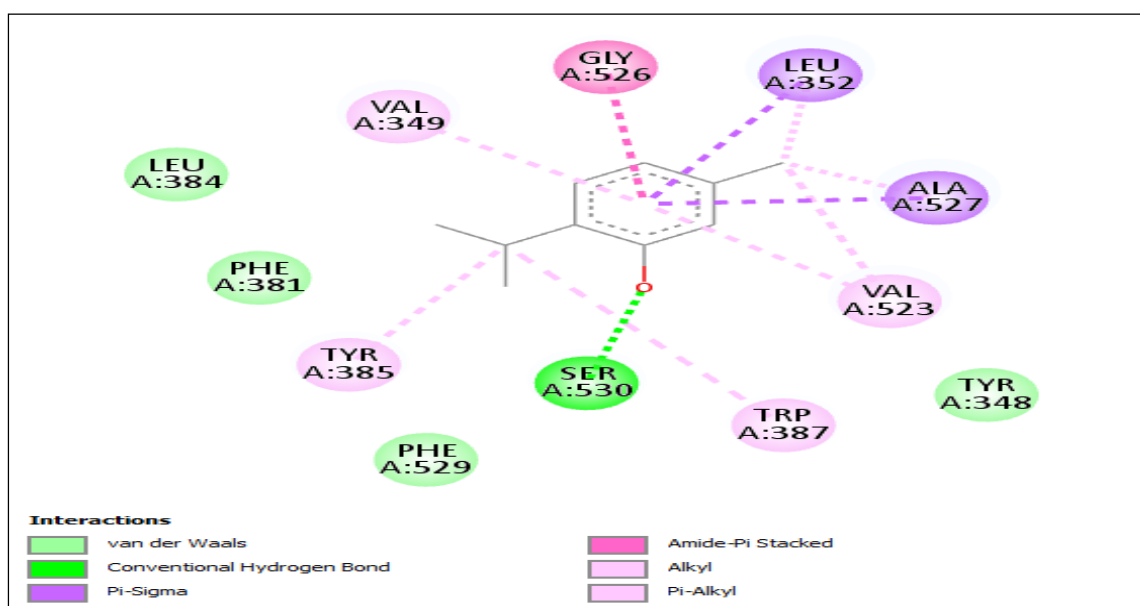


Figure 207 : Représentation 2D d'interaction d'interaction du Thymol avec le site actif de 5f1a

-Interprétation des résultats

L'analyse visuelle montre que ce composé inhibe la COX2 en formant une liaison d'hydrogène avec le site actif au niveau du résidu (**SER530**) et l'oxygène du groupement hydroxyle phénolique, au niveau de l'inhibiteur avec la distance (1.81 Å°).



Il faut également souligner l'intervention des résidus LEU352, GLY526, ALA527, VAL523, TRP387, TYR385, VAL349, dans la stabilité du complexe 5f1a-thymol en permettant la formation de nombreuses interactions de type hydrophobe.

#### VII.5.1.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

##### VII.5.1.4.1. Amarrage moléculaire d'une collection de molécules

Dans le but de rechercher et d'évaluer l'activité anti-bactérienne des deux principaux constituants d'extraits d'HEs des plantes étudiées (*Aloysia triphylla* : D-Limonène + E-Citral ; *Thymus capitatus* : Thymol + Carvacrol ; *Origanum vulgare* : Thymol + gamma Terpinène ; *Eucalyptus globulus* : 1,8-Cinéol + alpha Pinène). Nous avons analysé l'activité inhibitrice de ces molécules vis à vis les sites actifs des quatre protéines bactériennes utilisées tout en comparant leurs énergies d'interactions et leurs constantes d'inhibition (K<sub>i</sub>) par rapport à celles des deux antibiotiques de référence (mécicilline et acide nalidixique).

Le docking moléculaire de ces composés vis à vis les sites actifs des différentes protéines bactériennes, a permis de calculer leurs énergies d'interactions et leurs constantes d'inhibitions (K<sub>i</sub>) (Tableau 88).

**Tableau 88 : Scores des différents ligands (activité antibactérienne)**

Molécules	<i>E. Coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Alpha-Pinène	-5,45 Kcal/mol	-7,12 Kcal/mol	-5,05 Kcal/mol	-4,08 Kcal/mol
1-8-Cinéole	-5,33 Kcal/mol	-7,10 Kcal/mol	-5,33 Kcal/mol	-4,17 Kcal/mol
D-Limonène	-5,41 Kcal/mol	-5,04 Kcal/mol	-4,76 Kcal/mol	-2,90 Kcal/mol
Carvacrol	-5,45 Kcal/mol	-7,28 Kcal/mol	-5,11 Kcal/mol	-4,45 Kcal/mol
Thymol	-5,42 Kcal/mol	-6,83 Kcal/mol	-5,41 Kcal/mol	-4,10 Kcal/mol
E-Citral	-5,05 Kcal/mol	-6,38 Kcal/mol	-3,96 Kcal/mol	-4,07 Kcal/mol
Gamma Terpinène	-5,00 Kcal/mol	-6,89 Kcal/mol	-5,03 Kcal/mol	-3,87 Kcal/mol
Mécicilline	-5,86 Kcal/mol	-7,57 Kcal/mol	-7,12 Kcal/mol	-7,82 Kcal/mol
Acide nalidixique	-8,15 Kcal/mol	-8,47 Kcal/mol	-7,12 Kcal/mol	-6,66 Kcal/mol

L'observation et la lecture des résultats du tableau 88 nous montrent que le docking moléculaire de l'ensemble de composés choisis pour cette étude (alpha-pinène / 1,8-cinéol / D-limonène / Carvacrol / Thymol / E-citral / Gamma-terpinène), afin d'évaluer et d'apprécier leurs effets antibactériens vis-à-vis des quatre protéines bactériennes ciblées pour ce volet expérimental ;

révèle une augmentation significative de l'énergie d'interaction et de la constante d'inhibition ( $K_i$ ) vis-à-vis du site actif des enzymes ciblées par rapport à celles des antibiotiques témoins (mécicilline et acide nalidixique). Ces résultats démontrent l'absence d'une amélioration de leur activité inhibitrice vis-à-vis des quatre protéines bactériennes testées. Et dans ce cas là, et selon les modalités expérimentales de départ, choisies pour évaluer le potentiel antibactérien de ces molécules ; on peut juger que l'étude de leurs interactions ainsi que leurs analyses visuelles ne posent pas d'intérêt pour une recherche exploratrice plus poussée.

# **CONCLUSION**

---

## CONCLUSION

Les plantes médicinales représentent une alternative intéressante à l'utilisation des médicaments de synthèse. Dans le traitement d'affections respiratoires, ces plantes ont prouvé, pour la majorité, une efficacité, et un faible risque de toxicité.

Considérant que le soulagement des symptômes des infections respiratoires courantes d'origine virales ou bactériennes implique généralement une pharmacothérapie conventionnelle basée sur la prescription d'antibiotiques et d'anti-inflammatoires, l'usage d'une aromathérapie anti-infectieuse peut offrir une voie alternative intéressante pour le bien-être respiratoire. Dans ce cadre, la phytopharmacopée traditionnelle ou populaire offre un réservoir de plantes ancestrales utilisées comme composantes de remèdes pour les infections respiratoires et qui reste méconnues scientifiquement, notamment sur leur efficacité et innocuité.

Dans sa phase initiale, le présent travail entrepris à travers une série d'enquêtes ethnopharmacologiques dans le Nord-est Algérien, nous a permis de confirmer l'engouement toujours présent de la part de la population des régions enquêtées envers la phytothérapie traditionnelle en général, et les plantes médicinales utilisées en infectiologie respiratoire en particulier. La synthèse et la confrontation des données recueillies à travers les enquêtes auprès d'herboristes et de la population ont permis de récolter d'importantes informations, notamment d'établir un inventaire des plantes communément utilisées dans le traitement des infections respiratoires. Une liste de 20 espèces appartenant à 11 familles botaniques a été établie. De cette liste s'est dégagée quatre plantes aromatiques, citées fréquemment dans le traitement traditionnel de pathologies respiratoires diverses, avec une réputation de bon profil de tolérance et d'innocuité. Ces plantes aromatiques ont été identifiées formellement sur le plan botanique à savoir : l'*Origanum vulgare*, *Thymus capitatus*, *Aloysia triphylla* et *Eucalyptus globulus*.

Un travail entrepris au laboratoire sur les huiles essentielles (HEs) extraites des quatre plantes étudiées a permis de caractériser leur composition chimique et d'évaluer essentiellement leurs propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires et analgésiques.

Les profils chromatographiques des HEs établis par CPG-MS. Celui d'*A. triphylla* étudiée a révélé une composition chimique caractéristique de l'espèce, à savoir une prédominance du D-Limonène et E- et Z-Citral. Cependant, l'échantillon analysé a montré une relative forte teneur en Spathulénol et alpha-Terpinéol. Cette particularité qui distingue notre échantillon d'HE par rapport à autres HEs de différentes provenances pourrait être mise en exergue comme caractère distinctif de la verveine d'Algérie. Le spathulénol est un alcool sesquiterpénique tricyclique aux propriétés

antioxydantes, antiinflammatoires, antiprolifératives, antibactériennes et immunomodulatrices. Les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare* ont montré des compositions typiques des espèces Nord-Africaines, avec une prédominance des phénols. Les fortes proportions de thymol et carvacrol (57,57 et 10,53%, respectivement) trouvées dans l'HE de *T.capitatus*, indiquent que la population du *T.capitatus* récoltée est du chemotype Thymol. Alors que l'HE d'*O.vulgare* contenait des fortes proportions de thymol /  $\gamma$ -Terpinène / p-Cymène (38,96 / 25,45 / 18,31%, respectivement) et une faible quantité de carvacrol (7,65%). Ces traits sont peu fréquents, mais typiques de l'origan commun. La composition de l'HE d'*E.globulus* est dominée par le 1,8-cinéole, caractère partagé par de nombreuses huiles récoltées dans différentes régions d'Algérie.

Sur le volet pharmacologique, les potentialités analgésiques, anti-inflammatoires ont été évaluées sur des souris Albinos de souche Swiss. Utilisant la méthode *Tail Flick* couplé à l'analgésimètre, les quatre HEs étudiées ont montré un effet analgésique remarquable, dont le plus important était celui de l'*O.vulgare*. A l'exception de l'HE d'*A.triphylla*, les autres HEs ont diminué la réponse inflammatoire, évaluée par le Pléthysmomètre et le test de *Levy* par les mesures de volume et du poids d'œdème, respectivement.

En parallèle aux activités citées, les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare* ont exhibé d'importants effets antibactériens de par leur richesse en composantes phénoliques, notamment le thymol et le carvacrol. Ces HEs de Lamiacées ont inhibé significativement la croissance à la fois des bactéries à Gram (-) [*E.coli* ATCC/SH, *P.aeruginosa* ATCC, *K.pneumoniae* SH, *A.baumannii* SH] et Gram (+) [*S.aureus* ATCC/SH, *Streptococcus sp.*SH], à l'exception d'une souche hospitalière de *P.aeruginosa* testée. L'effet antifongique des HEs s'est manifesté aussi sur une levure, le *C. albicans*. Sur la base de la performance antimicrobienne observée au cours de cette étude ou reportée par d'autres auteurs, les HEs de *T.capitatus* et d'*O.vulgare*, ou leurs composants principaux (thymol, carvacrol) pourraient être sélectionnées comme produits naturels candidats dans la prévention et la lutte contre l'apparition, la transmission et la dissémination de bactéries résistantes.

Cependant, et à l'instar de tous les médicaments, l'emploi d'huiles essentielles en thérapeutique doit être fait sur des bases d'études approfondies, pharmacologiques, toxicologiques et cliniques.

Les résultats des tests antioxydants des HEs étudiées selon les méthodes ABTS, DPPH, GOR et CUPRAC ; ont montré que parmi les quatre HEs testées, celles d'*O.vulgare* et de *T.capitatus* ont révélé une importante activité antioxydante, comme le montrent les valeurs des concentrations (CI<sub>50</sub> et A<sub>0,50</sub>) obtenues par les deux méthodes (ABTS+, CUPRAC). Ces résultats suggèrent, qu'en

plus de leurs effets antibactériens, les HEs d'*O.vulgare* et de *T.capitatus* pourraient être une source potentielle d'antioxydants naturels.

En outre des propriétés précédemment explorées, les résultats indiquent que tous les HEs possèdent un potentiel inhibiteur de cholinestérase (AChE, BChE), mais aucune action inhibitrice n'a été produite par les HEs étudiées sur les enzymes Tyrosinase et Uréase.

Une étude toxicologique pratiquée *in vitro* sur les larves d'*Artemia salina* selon la méthode de Mayer, a révélé que les HEs d'*E.globulus* et d'*O.vulgare* ont induit 100% de mortalité des nauplii à la dose la plus faible testée. Alors que les LC50 de *T.capitatus* et d'*A.triphylla* étaient de 1,65 et 0,05 µg/mL, respectivement.

Un dernier volet de notre travail pratique, à ciblé l'étude « *in silico* » des activités anti-inflammatoire et antibactérienne des deux constituants majoritaires quantitativement de chaque huile essentielle étudiée selon les données fournis par les résultats de l'analyse CPG-MS.

Pour l'effet anti-inflammatoire, les résultats du docking moléculaire de ces composés avec la COX2, a permis de signaler d'impressionnantes diminutions dans leur énergie d'interaction et constante d'inhibition (Ki) par rapport à celle de l'AAS (témoin +) en faveur des cinq molécules parmi les huiles testées, à savoir le carvacrol, thymol, D-limonène,  $\alpha$  pinène, et 1-8 cinéol ; ce qui signifie l'induction d'un effet anti-inflammatoire potentiel par ces composés, méritant ainsi une exploitation, suite à des études plus poussées. Et à propos des données du docking moléculaire portant sur l'activité antibactérienne, on note une augmentation significative de l'énergie d'interaction et de la constante d'inhibition (Ki) de toutes les molécules testées vis-à-vis le site actif de l'enzyme par rapport à celle des antibiotiques témoins (mécilline et acide nalidixique) ; démontrant ainsi l'absence d'une amélioration de leur effet antibactériens.

Outre ces études expérimentales, les résultats encourageants de cette étude amèneront sans doute à effectuer d'autres travaux plus approfondis visant à :

- Étendre l'enquête ethnopharmacologique sur les quatre plantes étudiées aux autres régions de notre pays afin de corroborer les résultats obtenus par cette étude sur les différents usages traditionnels, notamment en infectiologie respiratoire ;
- Réaliser des études chimiques plus étendues sur la composition de l'huile essentielle de chacune des plantes étudiées pour appréhender au mieux l'impact de la variabilité naturelle (génétique, environnement) sur la composition et les effets pharmacobiologiques ;
- Renforcer les résultats obtenus sur le volet chimique et pharmacotoxicologique par des études plus poussées « *in silico* » ;

- Entreprendre la mise en place d'une réglementation Algérienne régissant l'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique.
- Et finalement, procéder à des études de développement de formulations galéniques pour voie orale (microencapsulation) des HEs.

A l'issue de cette étude ; une valorisation des plantes de la phytopharmacopée traditionnelle dans les domaines de la pharmacothérapie et de l'industrie pharmaceutique sera un moyen d'assurer leur usage de la médecine traditionnelle à la médecine moderne. Le statut des plantes d'une pharmacopée rénovée exige une standardisation pharmacognosique des huiles essentielles (et des plantes d'où elles sont extraites) ; une évaluation de leur efficacité et de leur potentiel toxique. Ceci ne doit pas viser le déracinement, mais la valorisation et la promotion de ce patrimoine culturel, qui finalement permettra de valoriser la biodiversité et contribuer au développement et au bien-être de la population locale.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



- [1] Burrow A, Eccles R, Jones AS. The Effects of Camphor, Eucalyptus and Menthol Vapour on Nasal Resistance to Airflow and Nasal Sensation. *Acta Oto-Laryngologica*. janv 1983 ; 96(1 2) :157-61.
- [2] Abdel-Massih R, Abraham A. Extracts of *Rosmarinus officinalis*, *Rheum raphonticum*, and *Origanum majoran* exhibit significant anti-staphylococcal activity. *IJPSR*. 2014 ; 5(3) :819-28.
- [3] Aydin A, Muratoglu K, Sudagidan M, Bostan K, Okuklu B, Harsa S. Prevalence and Antibiotic Resistance of Foodborne *Staphylococcus aureus* Isolates in Turkey. *Foodborne Pathogens and Disease*. janv 2011 ; 8(1) :63-9.
- [4] Goetz P, Ghédira K. *Phytothérapie anti-infectieuse*. Paris : Springer ; 2012. 382 p. (Collection phytothérapie practice).
- [5] Murray CJL, Shunji K, Fablina I, Swetschinski DL. et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019 : a systematic analysis. *Lancet* 2022 ; 399: 629–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).
- [6] Prinzi A., Hunt L.N., Goff D., Rohde R.E. (2022). Antimicrobial Resistance : A Review of a Broad-Spectrum Problem and Future Needs. [Internet]. Disponible sur : <https://infectioncontrol.tips>, [cité le 16 jui 2022].
- [7] Raut J.S., Karuppayil S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*. 62(2014): 250–264.
- [8] Sofowora A. *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique*. Paris : Berne : Karthala ; Académie suisse des sciences naturelles ; 2010. 378 p. (Economie et développement).
- [9] Máthé Á, éditeur. *Medicinal and Aromatic Plants of the World: Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects*. 1st ed. 2015. Dordrecht: Springer Netherlands : Imprint : Springer; 2015. 460 p. (Medicinal and Aromatic Plants of the World).
- [10] Anton R, Teuscher E, Lobstein A. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Paris ; Édition médicales internationales : Cachan cedex : Technique et documentation ; 2005. 544 p.
- [11] *Plantes aromatiques* [Internet]. Disponible sur : <http://www.jardiland-laravoire.fr/jardin/plantes-aromatiques-4282>. [cité le 1 févr 2020].
- [12] Gazengel J-M, Orecchioni A-M. *Le préparateur en pharmacie : guide théorique et pratique*. Paris: Tec & Doc; 2013. 1856 p.
- [13] Paris M, Hurabielle M. *Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1*. Paris: Masson; 1981. 339 p. (Abrégés de pharmacie).
- [14] Wichtl M, Anton R, Bernard M. *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Paris: Tec & Doc; 2003. 692 p.
- [15] *Jardinage - 5 astuces pour sécher vos plantes aromatiques* [Internet]. Disponible sur : <https://www.monpetitcoinvert.com/blog/5-astuces-pour-secher-vos-plantes-aromatiques>. [cité le 7 mars 2020].
- [16] Cecchini T, Ticli B. *Les plantes médicinales*. Paris: De Vecchi; 2008. 351 p.
- [17] Kaloustian J, Hadji-Minaglou F. *La connaissance des huiles essentielles, qualilogie et aromathérapie : entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Paris: Lavoisier Tec & doc; 2017. 210 p.
- [18] Lamendin H, Toscano G, Requirand P. *Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires*. *EMC - Dentisterie*. mai 2004;1(2):179-92.
- [19] Bureau L. *Plantes médicinales et compléments alimentaires à base de plantes*. *Phytothérapie*. oct 2015;13(5):335-44.
- [20] Pelt J-M. *Les Drogues : Leur histoire, leurs effets*. 2. ed. Paris : Doin; 1980. 219 p.
- [21] Agence du médicament (France). *Les Médicaments à base de plantes : septembre*. Paris: Agence nationale du médicament; 1998.
- [22] *Arkogelules-Arkopharma* [Internet]. Disponible sur : <http://www.pharmacieauquotidien.com/images/Image/arkogelules-racine-ortie->

- urinaire-arkopharma\_1407229125.jpg. [cité le 3 févr 2021].
- [23] Fibocon [Internet]. Disponible sur : <https://sc01.alicdn.com/kf/UT8j1H8XWXXXagOFbXh.jpg>. [cité le 3 févr 2021].
- [24] Arkogelules-Fragon [Internet]. Disponible sur : [http://www.pharmacieauquotidien.com/images/Image/arkogelules-fragon-arkopharma-circulation\\_1408962679.jpg](http://www.pharmacieauquotidien.com/images/Image/arkogelules-fragon-arkopharma-circulation_1408962679.jpg). [cité 7 févr 2021].
- [25] Phytothérapie [Internet]. Disponible sur : <https://www.toulouseinfo.fr/wp-content/uploads/2020/04/Phytoth%C3%A9rapie.jpg>. [cité le 9 févr 2021].
- [26] Bourrain J-L. Allergies aux huiles essentielles : aspects pratiques. *Revue Française d'Allergologie*. nov 2013;53:30.2.
- [27] Portères R. L'ethnobotanique : Place - Objet - Méthode - Philosophie. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*. 1961; 8(4.5):102.9.
- [28] Fleurentin J. L'ethnopharmacologie au service de la thérapeutique : sources et méthodes. *Hegel*. 2012;2(2):12.8.
- [29] J. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 4e édition, Lavoisier, Paris, 2009.
- [30] M .Hurabielle et M .Paris, *Abrégé de matière médicale (pharmacognosie)*, Masson , Paris ,1981 .ISBN :2-225-66165-0.
- [31] Sallé J.L, *Les Huiles Essentielles Synthèse d'aromathérapie*, 2ème édition revue, complétée et corrigée. Paris, 2004.
- [32] Baudoux D, *Pour une cosmétique intelligente huiles essentielles et végétales : les huiles essentielles sur la peau, au travers de la peau, au-delà de la peau*, Editions Amyris. Bruxelles, 2010.
- [33] Baudoux D, *L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles*, Amyris. Bruxelles, 2008.
- [34] Smallfield B. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Res*. 2001; 45: 4.
- [35] Klayman D.L., 1985. Qinghaosu (Artemisinin): an antimalarial drug from China *Science*, 228: 1049-1054.
- [36] Ferreira J.F.S., Janlck J., 1996. Distribution of artemisinin in *Artemisia annua* pp. 579-584. In : *Progress in new crops*. Janick J. (ed.), ASHS Press, Arlington, VA.
- [37] Seigler D.S., 1998. *Plant Secondary Metabolism*. Kluwer Academic Publishers. London, 759.
- [38] Gildo P. *Précis de phytothérapie*, Larousse Encyclopédie, MEMO Edition Alpen ; 2006.
- [39] Loomis D et Croteau R. *Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise*. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds) .*The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function*.1980; 4: 364-10.
- [40] Garner J. *Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation*. Ed Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France ; 1991.
- [41] Benini C. *Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur*. Université Gembloux ; 2007.
- [42] Aprotosoie AC, Spac AD, Hancianu M, Miron A, Tanasescu VF, Dorneanu V, et al. *The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (Foeniculum vulgare Mill.)*.*Farmacia*. 2010; 58 (1):46-54.
- [43] Chowdhury JU, Mobarok H, Bhuiyan NI, Nandi NC. *Constituents of essential oils from leaves and seeds of Foeniculum vulgare Mill. Cultivated in bangladesh*. *Bangladesh J Bot*.2009; 38(2): 181-83.
- [44] Belyagoubi L. *Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mémoire de magister*. Université Abou Bekr Belkaid ; 2006.
- [45] Hurtel JM. *Noix de muscade, Myristica fragrans, fiche médicale sur cette épice*

- aphrodisiaque et son huile essentielle antiseptique, phytomania : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. Phytomania com. 2006.
- [46] Boutamani M. 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. Mémoire on line. U.S.T.H.B Alger, 2013.
- [47] Olle M and Bender I, 2010. The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agron Res.* 2010 ; 8 (3) : 687-96.
- [48] Mohammedi Z. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse Magistère. Université Abou Bakr Belkaïd. Tlemcen ; 2006.
- [49] Marzoukia H, EL Aissib A, Khaldic A, Bouzidd S, Falconieri D, Marongiu B, et al. Pirasa A. Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. *The Open Nat Prod J.* 2009; 2: 86-91.
- [50] Lucchesie M E. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat. Université de La Réunion ; 2005.
- [51] Pinto E, Pina-Vaz C, Salgueiro L, Goncalves MJ, Costa De-Oliveira S, Cavaleiro C, et al. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida Aspergillus* and dermatophyte species. *J of Med Microbiol.* 2006; 55:1367-73.
- [52] Besombes C. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle ; 2008.
- [53] Wise M.L et Croteau R, *Comprehensive Natural Products Chemistry, Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids*, vol. 2. 1999.
- [54] Guignard J.L, *Abrégé de Biochimie végétale*. Préface du Pr J. Le Men, 2ème édition. Paris: Masson, 1979.
- [55] Breitmaier P.D.E, *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones*. Lavoisier, Ed. Tec. & Doc. Weinheim, Germany, 2006.
- [56] Bruneton J, *Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales*, 2ème édition. Paris. France: Tec & Doc éditions, 1997.
- [57] Franchomme et Penoel D. *L'aromathérapie exactement*. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles, Roger Jallois éditeur. Limoges ; 1990.
- [58] Maciel MV, Morais SM, Bevilaqua CML, Silva RA, Barros RS, Sousa RN, et al. Chemical composition of *Eucalyptus* ssp. Essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia congipalpis*. *Vet Parasitol.* 2010; 167: 1-7.
- [59] Daroui-Mokadem H, Kabouche A, Bouacha M, Soumati B. El Azzouny A, Bruneau C, et al. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil of fresh leaves of *Eucalyptus globulus* , and stems of *Smyrniolum olusatrum* from Constantine (Algeria). *Nat Prod Commun.* 2010; 5(10): 1669-72.
- [60] Samate Abdoul D. Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation. thèse de Doctorat, Univ.de Ouagadougou, Burkina Faso ; 2001.
- [61] Wang Z, Li L, Ding TI, Zhou X, Wang L, Zhang H, et al. Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *J chromat.* 2006; 1102 (1-2): 11-17.
- [62] Martini MC et Seiller M. Edition Tec et Doc. Editions médicales internationales, Paris, Lavoisier ; 1999.
- [63] Li Y ., Fabiano-Tixier AS., Chemat F ., 2014. Essential oil as reagent in green chemistry. *Springer Briefs in green Chemistry for Sustainability*, 9-20.
- [64] Kim NS et Lee DS. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2002; 982(1): 31-47.

- [65] Hubert R. Epices et aromates. Tec et Doc, Lavoisier, APRIA., Paris ; 1992.
- [66] Lahlou M. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Res.* 2004 ; 18 : 435-48.
- [67] Bourkhiss M, Hanach M, Bourkhiss B, Ouhssine M, Chaouch A. Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afr Sci.* 2007 ; 3 (2) : 232-42.
- [68] Cavalli JF. Caractérisation par CPG/SM et RMN du carbone-13 des huiles essentielles de Madagascar. Thèse de Doctorat. Université de Corse, Pascal Paoli ; 2002.
- [69] Adorjan B et Buchbauer G, « Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance* », *Journal* 25, 407–426, 2010.
- [70] Baser K.H.C et Buchbauer G, *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*, CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton, 2010.
- [71] Miguel M. G, « Antioxidant and Anti-Inflammatory activities of essential oils: A Short Review », *Molecules* 15, 9252–9287, 2012.
- [72] Al Musawi AH, Al-Naib FA.G. Allelopathic effects of *Eucalyptus microtheca* F.Muell. *J Univ Kuwait (Sci)*. 1975; 2:59-65.
- [73] Morrow PA and Fox LR. Effects of variation in *Eucalyptus* essential oil yield on insect growth and grazing damage . *Oecologia*. 1980; 45: 209-19.
- [74] Rios J.L et Recio M.C, « Medicinal plants and antimicrobial activity », *Journal of Ethnopharmacology* 100, 80–84, 2005.
- [75] Tegos G., Stermitz F.R, Lomovskaya O, et Lewis K, « 2002. Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials », *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 3133–3141., 2002.
- [76] Kalemba D et Kunicka A, « Antibacterial and antifungal properties of essential oils », *Current Medicinal Chemistry* 10, 813–829., 2003.
- [77] Lang G et Buchbauer G, « A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance* », *Journal* 27, 13–39., 2012.
- [78] Rios J.L, Recio M.C, et Villar A, « Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. », *Journal of Ethnopharmacology* 23, 127–149., 1988.
- [79] Griffin S.G, Wyllie S.G, Markham J.L, et Leach D.N, « The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity », *Flavour and Fragrance Journal* 14, 322–332, 1999.
- [80] Aires J, « Les systèmes d'efflux actifs bactériens : Caractérisation et modélisation pour quelles perspectives ? », *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France* 164, 265–270., 2011.
- [81] Lambert P.A, « Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites », *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1471–1485., 2005.
- [82] Wright G.D, « Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification », *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1451–1470., 2005.
- [83] Aires J., 2011. Les systèmes d'efflux actifs bactériens: Caractérisation et modélisation pour quelles perspectives? *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France* 164, 265–270. ].
- [84] Burt S, « Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review », *International Journal of Food Microbiology* 94, 223– 253., 2004.
- [85] Cronan J, Gennis R, et Maloy S, *Cytoplasmic membrane. In Escherichia coli and Salmonella typhimurrium.*, American Society for Microbiology, p. 31–55. 1987.
- [86] Saei-Dehkordi S.S, Tajik H, Moradi M, et Khalighi-Sigaroodi F, « Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. », *Food and Chemical*

- Toxicology 48, 1562–1567., 2010.
- [87] Sandri I.G, Zacaria J, Fracaro F, Delamare A.P.L, et Echeverrigaray S, « Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. », *Food Chemistry* 103, 823–828., 2007.
- [88] Sikkema J, De Bont J.A.M, et Poolman B, « Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. », *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 59, 201–222., 1995.
- [89] Carson C.F, Mee B.J, et Riley T.V, « Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. », *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 1914–1920., 2002.
- [90] Lepelletier D, Ferréol S, Villers D, et Richet H, « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial infections in ICU: risk factors, morbidity and cost. », *Pathology Biology*. 52, 474–479, 2004.
- [91] Tohidpour A, Sattari M, Omidbaigi R, Yadegar A, et Nazemi J, « Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). », *Phytomedicine* 17, 142–145., 2010.
- [92] Krm z bekmez H, Dem rc B, Ye lada E, Ba er K.H.C, et Dem rc F, « Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Turkey. », *Natural Product Communications* 4, 1001–1006., 2009.
- [93] Lorenzi V et al., « Geraniol Restores Antibiotic Activities against Multidrug-Resistant Isolates from Gram-Negative Species. », *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 53, 2209–2211., 2009.
- [94] Hay R.J, « Fungal infections », *Clinics in Dermatology* 24, 201–212., 2006.
- [95] Lupi O, Tying S.K, et McGinnis M.R, « Tropical dermatology: Fungal tropical diseases. », *Journal of the American Academy of Dermatology* 53, 931–951., 2005.
- [96] Weitzman I et Summerbell R.C, « The dermatophytes », *Clinical Microbiology Reviews* 8, 240–259., 1995.
- [97] Nucci M et Marr K.A, « Emerging Fungal Diseases », *Clinical Infectious Diseases* 41, 521–526., 2005.
- [98] Warnock D.W, « Trends in the epidemiology of invasive fungal infections », *Japanese Journal of Medical Mycology* 48, 1–12., 2007.
- [99] Miceli M.H, Díaz J.A, et Lee S.A, « Emerging opportunistic yeast infections », *The Lancet Infectious Diseases* 11, 142–151, 2011.
- [100] White R.L, Burgess D.S, Manduru M, et Bosso J.A, « Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. », *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 40, 1914–1918, 1996.
- [101] Vila R et al., « Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampaensis*, a new source of  $\alpha$ -bisabolol », *Bioresource Technology* 101, 2510–2514., 2010.
- [102] Waikedre J., Dugay A, Barrachina I, Herrenknecht C, Cabalion P, et Fournet A, « Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from New Caledonian *Citrus macroptera* and *Citrus hystrix*. », *Chemistry & Biodiversity* 7, 871–877., 2010.
- [103] Al-Ja'fari A.-H et al., « Composition and antifungal activity of the essential oil from the rhizome and roots of *Ferula hermonis* », *Phytochemistry* 72, 1406–1413., 2011.
- [104] Znati M et al., « Chemical Composition and in Vitro Evaluation of Antimicrobial and anti-acetylcholinesterase properties of the flower oil of *Ferula lutea* Natural Product », *Communication* 7(7), 947–950., 2012.
- [105] Edris A.E, « Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. », *Phytotherapy Research* 21, 308–323.,

- 2007.
- [106] Milner J.A, « A Historical perspective on garlic and cancer », *Journal of Nutrition* 131, 1027S–1031S, 2001.
- [107] Milner J.A, « Preclinical perspectives on garlic and cancer », *Journal of Nutrition* 136, 827S–831S, 2006.
- [108] Carneseccchi S et al., « Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. », *Cancer Letters* 215, 53–59., 2004.
- [109] Legault J, Dahl W, Debiton E, Pichette A, et Madelmont J.-C, « Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by alpha-humulene as possible mechanism of action. », *Planta Medica* 69, 402–407, 2003.
- [110] Uedo N et al., « Inhibition by d-limonene of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-Nnitrosoguanidine in Wistar rats. », *Cancer Letters* 137, 131–136., 1999.
- [111] Cavalieri E et al., «  $\alpha$ -bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells », *Biochemical and Biophysical Research Communications* 315, 589–594, 2004.
- [112] Sylvestre M, Pichette A, Lavoie S, Longtin A, et Legault J, « Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina* (L.) Coulter », *Phytotherapy Research* 21, 536–540., 2007.
- [113] Sylvestre M, Legault J, Dufour D, et Pichette A, « Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L », *Phytomedicine* 12, 299–304, 2005.
- [114] Calcabrini A et al., « Terpinen-4-ol, The main component of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma cells », *Journal of Investigative Dermatology* 122, 349–360, 2004.
- [115] Li Y, Li M.Y, Wang L, Jiang Z.H, Li W.Y, et Li H, « Induction of apoptosis of cultured hepatocarcinoma cell by essential oil of *Artemisia annua* L », *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 35, 337–339, 2004.
- [116] Abed L, « Végétaux et allergies. 3ème colloques nationaux sur les plantes médicinales », Hammam Sousse, 1989.
- [117] Sousa O.V, Silvério M.S, Del-Vechio-Vieira G, Matheus F.C, Yamamoto C.H, et Alves M.S, « Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil from *Eremanthus erythropappus* leaves », *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 60, 771–777, 2008.
- [118] Kim J, Lee Y.-S, Lee S.-G, Shin S.-C, et Park I.-K, « Fumigant antifungal activity of plant essential oils and components from West Indian bay (*Pimenta racemosa*) and thyme (*Thymus vulgaris*) oils against two phytopathogenic fungi », *Flavour and Fragrance Journal* 23, 272–277, 2008.
- [119] Ashour M.L et al., « Chemical composition and biological activity of the essential oil obtained from *Bupleurum marginatum* (Apiaceae) », *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61, 1079– 1087, 2009.
- [120] Hotta M, Nakata R, Katsukawa M, Hori K, Takahashi S, et Inoue H, « Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR $\alpha$  and  $\gamma$  and suppresses COX-2 expression », *Journal of Lipid Research* 51, 132–139, 2010.
- [121] Koh K. J, Pearce A. L, Marshman G, Finlay-Jones J., et Hart P. h, « Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation », *British Journal of Dermatology* 147, 1212–1217, 2002.
- [122] Takaki I et al., « Anti-Inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. Essential oil in experimental animal models », *Journal of Medicinal Food* 11, 741–746, 2008.
- [123] Martins F.T et al., « Composition, and anti-Inflammatory and antioxidant activities

- of the volatile oil from the fruit peel of *Garcinia brasiliensis* », *Chemistry & Biodiversity* 5, 251–258, 2008.
- [124] Suhaj M., 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity : a review. *J. Food Comp. Anal.*, 19, 531-537.
- [125] Tadhani M.B., Patel V.H., Subhash R., 2007. In vitro antioxidant activities of stevia rebaudiana leaves and callus. *J. Food Comp. Anal.*, 20, 323-329.
- [126] Koechlin-Ramonatxo C., 2006. Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutr. Clin. Métabol.*, 20, 165-177.
- [127] Vârban D.I., Duda M., Varban R., et Muntean S., 2009. Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis L.* Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*. 66, 225-229.
- [128] Bonafos C. *Traité scientifique aromathérapie: aromathologie & aromachologie*. Escalquens : Editions Dangles; 2013.
- [129] Smith CK, Moore CA, Alahi EN, Smart, AT, Hotchkiss SA. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000; 168: 189-99.
- [130] Koziol N. *Huiles essentielles d'«Eucalyptus globulus, d'«Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora :qualité, efficacité et toxicité*. Thèse pour obtenir le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, France; 2015.
- [131] Vassart S. *Les huiles Essentielles* .Ed. I.P.I, Besancon ; 2009.
- [132] Bruneton J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Lavoisier, Paris ; 1993.
- [133] Bégin D, Lavoué J, Gérin M. „La Substitution des Solvants par le d-limonène“, *Health (NIOSH)* ; 2000.
- [134] Bessah R et Benyoussef EL. La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Rev Energ Renouv*. 2015 ; 18 (3) :513 - 28.
- [135] Iqbal M. *International Trade in Non-Wood Forest Products: An Overview*, Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1993.
- [136] Ilbert H, Hoxha V, Sahi L, Courivaud A, Chailan C. *Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie*. *Options méditerranéennes, n°73, série B : Etudes et Recherches*, France Agri Mer ; 2016.
- [137] Appareil respiratoire [Internet]. Disponible sur : <https://www.greenfacts.org/fr/glossaire/abc/appareil-respiratoire.htm>. [cité le 23 mai 2021].
- [138] Anatomie et histologie de l'appareil respiratoire - Biologie humaine - Terminale ST2S [Internet]. Disponible sur : [https://www.assistancescolaire.com/eleve/TST2S/biologie/reviser-le-cours/anatomie-et-histologie-de-l-appareil-respiratoire-tst2s\\_bio\\_01](https://www.assistancescolaire.com/eleve/TST2S/biologie/reviser-le-cours/anatomie-et-histologie-de-l-appareil-respiratoire-tst2s_bio_01). [cité le 24 mai 2021].
- [139] Anatomie et physiologie des fosses nasales et des sinus [Internet]. Disponible sur : <https://microbiologiemedicale.fr/anatomie-physiologie-fosses-nasales-sinus>. [cité le 24 mai 2021].
- [140] Anatomie des voies aériennes supérieures - [Internet]. Disponible sur : <https://microbiologiemedicale.fr/anatomie-voies-aeriennes-superieures>. [cité le 27 mai 2021].
- [141] Futura. Pharynx [Internet]. Disponible sur : <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-pharynx-6956>. [cité le 29 mai 2021].
- [142] Anatomie et physiologie du larynx [Internet]. Disponible sur : [http://phoniatriestrasbourg.free.fr/Site\\_6/Larynx\\_\\_anatomie.html](http://phoniatriestrasbourg.free.fr/Site_6/Larynx__anatomie.html). [cité le 29 mai 2021].
- [143] Larynx - Anatomie, Physiologie, Douleurs, Maladies [Internet]. Disponible sur :

- <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=larynx>. [cité le 30 mai 2021].
- [144] Anatomie voies aériennes inférieures [Internet]. Disponible sur : <https://www.formationambulancier.fr/01-cours/m0/0006-ana-resp-vai.html>. [cité le 30 mai 2021].
- [145] Doctissimo. Bronches - Définition du mot Bronches [Internet]. Disponible sur : <https://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/bronches>. [cité le 27 mai 2021].
- [146] Doctissimo. Anatomie - Atlas du corps humain - Appareil respiratoire [Internet]. Disponible sur : <https://www.doctissimo.fr/html/sante/atlas/fiches-corps-humain/appareil-respiratoire.htm>. [cité le 28 mai 2021].
- [147] Diaphragme - Anatomie, pathologies et examens [Internet]. Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=diaphragme>. [cité le 28 mai 2021].
- [148] 16.3 Circulatory and Respiratory Systems - Concepts of Biology | OpenStax [Internet]. Disponible sur : <https://openstax.org/books/concepts-biology/pages/16-3-circulatory-and-respiratory-systems>. [cité le 30 mai 2021].
- [149] Nez - Anatomie, Physiologie, Douleurs, Traitements [Internet]. Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=nez>. [cité le 28 mai 2021].
- [150] Pharynx - Anatomie, Physiologie, Douleurs, Pathologies [Internet]. Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=pharynx>. [cité le 28 mai 2021].
- [151] physiologie du larynx : voix et autres fonctions [Internet]. Disponible sur : [http://phoniatriestrasbourg.free.fr/Site\\_6/Larynx\\_\\_physiologie.html](http://phoniatriestrasbourg.free.fr/Site_6/Larynx__physiologie.html). [cité le 28 mai 2021].
- [152] Trachée - Anatomie, Pathologies et Traitements [Internet]. Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=trachee>. [cité le 28 mai 2021].
- [153] Futura. Bronche [Internet]. Disponible sur : <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-bronche-7300>. [cité le 29 mai 2021].
- [154] Présentation du système respiratoire - Troubles pulmonaires et des voies aériennes [Internet]. Disponible sur : <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/troubles-pulmonaires-et-des-voies-a%C3%A9riennes/biologie-des-poumons-et-des-voies-respiratoires/pr%C3%A9sentation-du-syst%C3%A8me-respiratoire>. [cité le 29 mai 2021].
- [155] Body V. Système respiratoire inférieur [Internet]. Disponible sur : <https://www.visiblebody.com/fr/learn/respiratory/lower-respiratory-system>. [cité le 27 mai 2021].
- [156] Universalis E. Physiologie - APPAREIL RESPIRATOIRE [Internet]. Disponible sur : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/respiratoire-appareil-physiologie/> [cité le 03 juin 2021].
- [157] Infection pulmonaire : quels symptômes et comment la soigner ? [Internet]. Disponible sur : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2504358-infection-pulmonaire-symptome-causes-traitement/> [cité le 3 juin 2021].
- [158] Infections respiratoires aiguës : définition, symptômes et diagnostic [Internet]. Disponible sur : <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/pneumologie/infections-respiratoires-aigues/> [cité le 5 juin 2021].
- [159] Reconnaître une sinusite aiguë [Internet]. Disponible sur : <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/sinusite/reconnaitre-sinusite-aigue> [cité le 5 juin 2021].
- [160] Reconnaître une angine [Internet]. Disponible sur : <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/angine/definition-symptomes-diagnostic>



- [cité le 7 juin 2021].
- [161] Demoré B, Charmillon A. Traitement des infections respiratoires basses et hautes. *Pharm Clin Thérapeutique*. 2018;801-814.e1.
- [162] Laryngite - Causes, Symptômes, Traitement, Diagnostic - salutbonjour.ca [Internet]. Disponible sur : <https://ressourcessante.salutbonjour.ca/condition/getcondition/laryngite> [cité le 9 juin 2021].
- [163] Diagnosis and Management of Difficult-to-treat and Severe Asthma [Internet]. Disponible sur : <https://ginasthma.org/severeasthma/> [cité le 8 juin 2021].
- [164] Les traitements de la crise d'asthme [Internet]. VIDAL. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/maladies/voies-respiratoires/asthme/traitements-crise.html> [cité le 2 juin 2021].
- [165] Insuffisance respiratoire : comment reprendre son souffle [Internet]. Disponible sur : [https://www.allodocteurs.fr/maladies/poumons/insuffisance-respiratoire/insuffisance-respiratoire-comment-reprendre-son-souffle\\_2885.html](https://www.allodocteurs.fr/maladies/poumons/insuffisance-respiratoire/insuffisance-respiratoire-comment-reprendre-son-souffle_2885.html) [cité le 12 juin 2021].
- [166] Larousse-des-plantes-medicinales.pdf [Internet]. Disponible sur : <https://assomaleva.files.wordpress.com/2016/02/larousse-des-plantes-medicinales.pdf>. [cité le 22 sept 2021].
- [167] Marinier DFC. Chimie des huiles essentielles [Internet]. Disponible sur : <https://www.au-bonheur-dessences.com/huiles-essentielles/composition-chimique-des-huiles-essentielles/> [cité le 20 mai 2021].
- [168] Santé : 18 plantes pour tonifier les poumons [Internet]. Disponible sur : <https://monjardinmamaison.maison-travaux.fr/mon-jardin-ma-maison/plantes-par-type/plantes-et-fleurs/15-plantes-pour-tonifier-les-poumons-147853.html> [cité le 29 juin 2021].
- [169] La Réglisse - Bienfaits, Utilisation, Posologie, Astuces [Internet]. Disponible sur : [https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=reglisse\\_ps](https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=reglisse_ps). [cité le 29 juin 2021].
- [170] Rey C. La variété d'hysope officinale «Perlay». 2004;36:6.
- [171] Origan - Tout savoir sur cette plante [Internet]. Disponible sur : [https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=origan\\_ps](https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=origan_ps). [cité le 30 juin 2021].
- [172] The Editors of Encyclopaedia Britannica. Verbenaceae | plant family [Internet]. Disponible sur : <https://www.britannica.com/plant/Verbenaceae>. [cité le 18 déc 2021].
- [173] Pérez Zamora C, Torres C, Nuñez M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Verbenaceae Species Growing in South America. *Molecules*. 2018;23(3):544.
- [174] O'Leary N, Calviño CI, Martínez S, Lu-Irving P, Olmstead RG, Múlgura ME. Evolution of morphological traits in Verbenaceae. *American Journal of Botany*. 2012;99(11):1778-92.
- [175] Bandoni A, éditeur. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica: su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. La Plata: CYTED; 2000. 410 p.
- [176] Verbena-officinalis [Internet]. Disponible sur : <https://img.plantis.info/wp-content/uploads/2015/06/Verbena-officinalis.jpg> [cité le 13 mars 2021].
- [177] Lippia alba [Internet]. Disponible sur : <http://tramil.net/fr/plant/lippia-alba> [cité le 13 mars 2021]
- [178] Lemon verbena [Internet]. Disponible sur : [https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/71IwE%2B0TdML.\\_AC\\_%20SL1024%20\\_.jpg](https://images-na.ssl-images-amazon.com/images/I/71IwE%2B0TdML._AC_%20SL1024%20_.jpg) [cité le 13 mars 2021].
- [179] Quézel P, Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales [Internet]. 2<sup>e</sup> éd. Editions du Centre National de la recherche scientifique

- Disponible sur : <https://books.google.dz/books?id=R4czAAAAIAAJ>. [cité le 15 mars 2021].
- [180] Blanca G. Flora Vascular de Andalucía Oriental. 2<sup>e</sup> éd. Granada: Universidades de Almería; 2011. 1754 p.
- [181] Tripathi IP, Tripathi R, Tiwari A. Investigation of Biologically Active Phytoconstituents present in selected Plants Material of Verbenaceae, Lamiaceae and Fabaceae family. *International Journal of Multidisciplinary and Current Research*. 2017;5:31-7.
- [182] Siedo SJ. Four New Species of the Genus *Aloysia* (Verbenaceae). *Lundellia*. 2012;15(1):35-46.
- [183] Lu-Irving P, O’Leary N, O’Brien A, Olmstead RG. Resolving the Genera *Aloysia* and *Acantholippia* within tribe Lantaneae (Verbenaceae), using Chloroplast and Nuclear Sequences. *Systematic Botany*. 2014;39(2):644-55.
- [184] THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2009;161(2):105-21.
- [185] Ghédira K, Goetz P. Verveine odorante *Aloysia citriodora* Paláu (*Lippia citriodora*). *Phytothérapie*. 2017;15(1):33-7.
- [186] Bonjean A. *Aloysia triphylla* - Verveine odorante (Verbenaceae) [Internet]. Disponible sur : <https://www.tela-botanica.org/wp-content/uploads/2017/11/verveine.pdf> [cité le 24 mars 2021].
- [187] Verveine citronnelle [Internet]. Disponible sur : <https://media.ooreka.fr/public/image/plant/574/varietyImage/d12qxn2g7tskog0840k04so80-source-12087927.jpg> [cité 24 mars 2021].
- [188] Verveine citronnée - tige [Internet]. Disponible sur : <https://keldelice-assets.s3.amazonaws.com/attachments/photos/771675/large/verveine-citronnee-tige.jpg> [cité 27 mars 2021].
- [189] European pharmacopoeia. 7<sup>e</sup> éd. Vol. 1. Strasbourg: EDQM/Council of Europe; 2010. 1404 p.
- [190] Verveine citronnelle aloysia [Internet]. Disponible sur : <https://www.altheaprovence.com/blog/wp-content/uploads/2019/09/verveine-citronnelle-aloyisia-04.jpg> [cité le 28 mars 2021].
- [191] Bahramsoltani R, Rostamiasrabadi P, Shahpiri Z, Marques AM, Rahimi R, Farzaei MH. *Aloysia citriodora* Paláu (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018;222:34-51.
- [192] Fleurs de verveine odorante [Internet]. Disponible sur : <https://www.gastronomiac.com/wp/wp-content/uploads/2016/06/fleurs-de-verveine-odor-ante.jpg> [cité le 28 mars 2021].
- [193] Feuilles de verveine [Internet]. Disponible sur : <https://i0.wp.com/www.alsagarden.com/blog/wp-content/uploads/2018/05/Feuilles-verv-eine.jpg> [cité le 5 avril 2021].
- [194] Verveine citronnelle-feuilles [Internet]. Disponible sur : <https://i0.wp.com/espritlaita.fr/wp-content/uploads/2017/12/verveine-citronnelle-feuilles-s%C3%A9ch%C3%A9es.jpg> [cité le 5 avril 2021].
- [195] Infante R, Rubio P, Contador L, Moreno V. Effect of drying process on lemon verbena (*Lippia citriodora* Kunth) aroma and infusion sensory quality: Effect of drying process on lemon verbena. *International Journal of Food Science & Technology*. 2009;45(1):75-80.
- [196] Gattuso S, M. Van Baren C, Gil A, Bandoni A, Ferraro G, Y Martha G. Morpho-histological and quantitative parameters in the characterization of lemon verbena (*Aloysia citriodora palau*) from Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2008;7(4):190-8.

- [197] Argyropoulou C, Daferera D, Tarantilis PA, Fasseas C, Polissiou M. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2007;35(12):831-7.
- [198] de las Mercedes Oliva M, Carezzano ME, Gallucci MN, Demo MS. Antimycotic Effect of the Essential Oil of *Aloysia Triphylla* against *Candida* Species Obtained from Human Pathologies. *Natural Product Communications*. 2011;6(7):1934578X1100600.
- [199] Benelli G, Pavela R, Canale A, Cianfaglione K, Ciaschetti G, Conti F, et al. Acute larvicidal toxicity of five essential oils ( *Pinus nigra* , *Hyssopus officinalis* , *Satureja montana* , *Aloysia citrodora* and *Pelargonium graveolens* ) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus*: Synergistic and antagonistic effects. *Parasitology International*. 2017;66(2):166-71.
- [200] Jiménez-Ferrer E, Santillán-Urquiza MA, Alegría-Herrera E, Zamilpa A, Noguerón-Merino C, Tortoriello J, et al. Anxiolytic effect of fatty acids and terpenes fraction from *Aloysia triphylla*: Serotonergic, GABAergic and glutamatergic implications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;96:320-7.
- [201] Infusion-verveine-citron [Internet]. Disponible sur : [https://jardinbio-etic.fr/wp-content/uploads/Photo\\_CI/infu-verveine-citron-f-11244.png](https://jardinbio-etic.fr/wp-content/uploads/Photo_CI/infu-verveine-citron-f-11244.png) [cité le 13 mars 2021].
- [202] Hydrolat-verveine-citronnée [Internet]. Disponible sur : [https://www.onatera.com/imagesUp/produits/hydrolat-verveine-citronnee-bio-200-ml-terraia\\_11959-1\\_zoom.jpg](https://www.onatera.com/imagesUp/produits/hydrolat-verveine-citronnee-bio-200-ml-terraia_11959-1_zoom.jpg) [cité le 13 mars 2021].
- [203] Huile essentielle-verveine [Internet]. Disponible sur : <https://static.beaute-test.com/prod/img68213.jpg>. [cité le 13 mars 2021].
- [204] PEZZETTA A. Le Lamiaceae Della flora italiana: distribuzione regionale e considerazioni fitogeografiche. *Annales : Series Historia Naturalis*. 2019;29(1):103-18.
- [205] Guignard J-L, Dupont F. *Botanique : les familles de plantes*. 1<sup>re</sup> éd. Elsevier / Masson; 2015. 336 p.
- [206] 30 plantes médicinales à mettre dans son jardin pour se soigner [Internet]. Disponible sur : <https://toitsalternatifs.fr/conseils-pratiques/30-plantes-medicinales-a-mettre-dans-son-jardin-pour-se-soigner/> [cité le 13 mars 2021].
- [207] Rameau J-C, Mansion D, Dumé G. *Flore forestière française: guide écologique illustré*. 3<sup>e</sup> éd. Paris: Institut pour le développement forestier; 2008. 2438 p.
- [208] Bartolucci F, Peruzzi L, Passalacqua N. Typification of names and taxonomic notes within the genus *Thymus* L. ( Lamiaceae ). *taxon*. 2013;62(6):1308-14.
- [209] Salehi B, Abu-Darwish MS, Tarawneh AH, Cabral C, Gadetskaya AV, Salgueiro L, et al. *Thymus* spp. plants - Food applications and phytopharmacy properties. *Trends in Food Science & Technology*. 2019;85:287-306.
- [210] Flore de Tilo et du Dodécanèse [Internet]. Tilo-botanica. 2008 Disponible sur : <http://www.tilo-botanica.eu/accueil.html>. [cité le 15 mars 2021].
- [211] Blanca G, Andalusien, éditeurs. *Flora vascular de Andalucía oriental : Verbenaceae - Asteraceae*. Vol. 4. Sevilla: Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía; 2009. 426 p.
- [212] Rodrigues LS, Monteiro P, Maldoa-Martins M, Monteiro A, Pova O, Teixeira G. Biodiversity studies on portuguese *Thymra capitata*. *Acta Hortic*. 2006;(723):127-32.
- [213] *Thymus* [Internet]. Disponible sur : <https://www.meditflora.com/legn/thymuscapx.jpg> [cité le 25 mars 2021].
- [214] Iauk L, Acquaviva R, Mastrojeni S, Amodeo A, Pugliese M, Ragusa M, et al. Antibacterial, antioxidant and hypoglycaemic effects of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link leaves' fractions. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2015;30(3):360-5.
- [215] Xenomorf. Conehead Thyme [Internet]. Disponible sur : <https://pics.davesgarden.com/pics/2005/04/03/Xenomorf/2178f8.jpg> [cité le 25 mars 2021].

- 2021].
- [216] Casiglia S, Bruno M, Scandolera E, Senatore F, Senatore F. Influence of harvesting time on composition of the essential oil of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link. growing wild in northern Sicily and its activity on microorganisms affecting historical art crafts. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019;12(8):2704-12.
- [217] *Thymbra capitata* - Native (incl. archeophytes) [Internet]. Disponible sur : [http://euromed.luomus.fi/euromed\\_map.php?taxon=486985&size=medium](http://euromed.luomus.fi/euromed_map.php?taxon=486985&size=medium) [cité le 26 mars 2021].
- [218] Wild-Thyme-Flowers-Daphnis-and-Chloe [Internet]. Disponible sur : <https://epicesdecru.com/upload/products/Wild-Thyme-Flowers-Daphnis-and-Chloe.jpg> [cité le 29 mars 2021].
- [219] Feuilles de thym séchées [Internet]. Disponible sur : <https://c8.alamy.com/compfr/2agft0b/tas-de-feuilles-de-thym-seche-isole-sur-fond-blanc-2agft0b.jpg> [cité le 27 mars 2021].
- [220] Stahl-Biskup E, Sáez F, éditeurs. *Thyme: the genus thymus*. 1<sup>re</sup> éd. London ; New York: Taylor and Francis; 2002. 330 p. (Medicinal and aromatic plants--industrial profiles; vol. 24).
- [221] Peter KV, éditeur. *Handbook of herbs and spices*. 2<sup>e</sup> éd. Oxford ; Philadelphia: Woodhead Pub; 2012. 607 p. (Woodhead Publishing series in food science, technology and nutrition).
- [222] NOUIOUA, Fatima Ezzahra. GHERABI, Sahoua URI. Screening biologique et phytochimique du genre *Thymus* [Internet]. Disponible sur : <http://dspace.univ-msila.dz:8080/xmlui/handle/123456789/24446> [cite le 29 juin 2021]
- [223] Goudjil MB, Zighmi S, Hamada D, Mahcene Z, Bencheikh SE, Ladjel S. Biological activities of essential oils extracted from *Thymus capitatus* (Lamiaceae). *South African Journal of Botany*. 2020;128:274-82.
- [224] Gonçalves JCR, de Meneses DA, de Vasconcelos AP, Piauilino CA, Almeida FR de C, Napoli EM, et al. Essential oil composition and antinociceptive activity of *Thymus capitatus*. *Pharmaceutical Biology*. 2017;55(1):782-6.
- [225] Jabri-Karoui I, Bettaieb I, Msaada K, Hammami M, Marzouk B. Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*. *Journal of Functional Foods*. 2012;4(3):661-9.
- [226] Jayari A, El Abed N, Jouini A, Mohammed Saed Abdul-Wahab O, Maaroufi A, Ben Hadj Ahmed S. Antibacterial activity of *Thymus capitatus* and *Thymus algeriensis* essential oils against four food-borne pathogens inoculated in minced beef meat. *J Food Saf*. 2018;38(1):1-10.
- [227] Zarzuelo A, Crespo E. The medicinal and non medicinal uses of thyme. In: *Thyme: the genus thymus*. 1<sup>re</sup> éd. New York: Taylor and Francis; 2002. p. 263-92.
- [228] Naturactive-thym-thymol-huile-essentielle-bio-5mL [Internet]. Disponible sur : [https://www.paratamtam.com/52172-thickbox\\_default/naturactive-thym-a-thymol-huile-essentielle-bio-5-ml.jpg](https://www.paratamtam.com/52172-thickbox_default/naturactive-thym-a-thymol-huile-essentielle-bio-5-ml.jpg) [cité le 23 mars 2021].
- [229] tilman-thymoseptine-sirop au thym-150mL [Internet]. Disponible sur : <https://img.newpharma.net/images/products/fr/500/tilman-thymoseptine-sirop-au-thym-150ml.2000.jpg> [cité le 23 mars 2021].
- [230] Saoud I, Hamrouni L, Hanana M, Bouzid S, Khouja ML. Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Coridothymus capitatus* (L.) Reichenb. Fil. *Phytothérapie*. 2010;8(6):370-3.
- [231] Dupont F, Guignard J-L. *Botanique systématique moléculaire* [Internet]. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson ; 2007 295 p. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/book/9782294047923> [cité le 28 mars 2021].
- [232] ORIGAN vulgaire - Les Plantes de La Lorien Les Plantes de La Lorien [Internet]. Disponible sur : <http://www.lalorien.com/pages/origan-vulgaire> [cité le 28 mars 2021].

- [233] World Health Organization, éditeur. WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS). Geneva: World Health Organization; 2010. 441 p.
- [234] Kosakowska O, Czupa W. Morphological and chemical variability of common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) occurring in eastern Poland. *Herba Polonica*. 2018; 64(1):11-21.
- [235] Oregano *Origanum vulgare* [Internet]. Anniesremedy. Disponible sur : <https://www.anniesremedy.com/origanum-vulgare-oregano.php> [cité le 29 mars 2021].
- [236] *Origanum vulgare* (wild marjoram): Go Botany [Internet]. Disponible sur : <https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/origanum/vulgare/> [cité le 29 mars 2021].
- [237] Plante médicinale : Origan vulgaire [Internet]. Disponible sur : <http://www.simplentsens.com/2019/09/dans-la-serie-les-plantes-du-jardin-2.html> [cité le 29 mars 2021].
- [238] Vokou D, Kokkini S, Bessiere J-M. Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology*. 1993;21(2):287-95.
- [239] *Origanum vulgare* (Oregano): MaltaWildPlants.com - the online Flora of the Maltese Islands. [Internet]. Disponible sur : [http://www.maltawildplants.com/LABT/Origanum\\_vulgare.php](http://www.maltawildplants.com/LABT/Origanum_vulgare.php) [cité le 30 mars 2021].
- [240] Necula R. Light micrograph of cross-section through *Origanum vulgare* leaf. A peltate glandular hair is distinguished in a depression of lower epidermis [Internet]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/figure/Light-micrograph-of-cross-section-through-Origanum-vulgare-leaf-A-peltate-glandular-hair\\_fig4\\_270897651](https://www.researchgate.net/figure/Light-micrograph-of-cross-section-through-Origanum-vulgare-leaf-A-peltate-glandular-hair_fig4_270897651) [cité le 3 avril 2021].
- [241] Kintzios SE, éditeur. Oregano: the genera *Origanum* and *Lippia*. London; New York: Taylor and Francis; 2002. 277 p. (Medicinal and aromatic plants--industrial profiles; vol. 25).
- [242] Şahin F, Güllüce M, Daferera D, Sökmen A, Sökmen M, Polissiou M, et al. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. 2004;15(7):549-57.
- [243] Ozgur E. Cross section of leaf. a, b: *Origanum rotundifolium*, c, d: *O. vulgare* ssp. *viride*, e, f: *Teucrium hircanum*. le: lower epidermis, pp: palisade parenchyma, sp: spongy parenchyma, ue: upper epidermis, vb: vascular bundle. Bar = 100 µm. [Internet]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/figure/Cross-section-of-leaf-a-b-Origanum-rotundifolium-c-d-O-vulgare-ssp-viride-e-f\\_fig2\\_269870445](https://www.researchgate.net/figure/Cross-section-of-leaf-a-b-Origanum-rotundifolium-c-d-O-vulgare-ssp-viride-e-f_fig2_269870445) [cité le 4 avril 2021].
- [244] Bosabalidis AM, Exarchou F. Effect of NAA and GA3 on Leaves and Glandular Trichomes of *Origanum x Intercedens* Rech.: Morphological and Anatomical Features. *International Journal of Plant Sciences*. 1995;156(4):488-95.
- [245] Jackson BP, Snowdon DW, Jackson BP. Atlas of microscopy of medicinal plants, culinary herbs, and spices. Boca Raton: CRC Press; 1990. 257 p.
- [246] Bianchini AE, Garlet QI, da Cunha JA, Bandeira Junior G, Brusque ICM, Salbego J, et al. Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. *Braz J Med Biol Res*. 2017;50(12):110-3.
- [247] Adame-Gallegos JR, Andrade-Ochoa S, Nevarez-Moorillon GV. Potential Use of Mexican Oregano Essential Oil against Parasite, Fungal and Bacterial Pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2016;19(3):553-67.
- [248] Zhang X-L, Guo Y-S, Wang C-H, Li G-Q, Xu J-J, Chung HY, et al. Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food Chemistry*. 2014;152:300-6.

- [249] Ocaña-Fuentes A, Arranz-Gutiérrez E, Señorans FJ, Reglero G. Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essentials oils: Anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48(6):1568-75.
- [250] Han X, Parker TL. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochimie Open*. 2017;4:73-7.
- [251] Afarineshe Khaki MR, Pahlavan Y, Sepehri G, Sheibani V, Pahlavan B. Antinociceptive Effect of Aqueous Extract of *Origanum vulgare* L. in Male Rats: Possible Involvement of the GABAergic System. *Iran J Pharm Res*. 2013;12(2):407-13.
- [252] Laothaweerungsawat N, Neimkhum W, Anuchapreeda S, Sirithunyalug J, Chaiyana W. Transdermal delivery enhancement of carvacrol from *Origanum vulgare* L. essential oil by microemulsion. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020;579:119052.
- [253] Cervato G, Carabelli M, Gervasio S, Cittera A, Cazzola R, Cestaro B. Antioxidant properties of Oregano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. *J Food Biochemistry*. 2000;24(6):453-65.
- [254] Bejaoui A, Boulila A, Boussaid M. Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. from Tunisia. *JMPR*. 2013;7(32):2429-35.
- [255] Arami S, Ahmadi A, Haeri SA. The Radioprotective Effects of *Origanum vulgare* Extract Against Genotoxicity Induced by <sup>131</sup>I in Human Blood Lymphocyte. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*. 2013;28(3):201-6.
- [256] Prathyusha P, Subramanian MS, Nisha MC, Santhanakrishnan R, Seenana MS. Pharmacognostical and phytochemical studies on *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae). *Anc Sci Life*. 2009;29(2):17-23.
- [257] Vidal 2001: le dictionnaire. 77<sup>e</sup> éd. Paris: OVP-Éd. du Vidal; 2001. 2599 p.
- [258] Cirino ICS, Menezes-Silva SMP, Silva HTD, de Souza EL, Siqueira-Júnior JP. The Essential Oil from *Origanum vulgare* L. and Its Individual Constituents Carvacrol and Thymol Enhance the Effect of Tetracycline against *Staphylococcus aureus*. *Chemotherapy*. 2014;60(5-6):290-3.
- [259] Nowack R. Review Article: Cytochrome P450 enzyme, and transport protein mediated herb–drug interactions in renal transplant patients: Grapefruit juice, St John’s Wort – and beyond! (Review Article). *Nephrology*. 2008;13(4):337-47.
- [260] Martins N, Barros L, Santos-Buelga C, Henriques M, Silva S, Ferreira ICFR. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. *Food Chem*. 2014;158:73-80.
- [261] Hollenbach CB, Bing RS, Mello FPS, Schuch TL, Rodrigues MRA, Mello FB, et al. Reproductive Toxicity Assessment of *Origanum vulgare* Essential Oil on Male Wistar Rats. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2015;27:1-3.
- [262] Kubitzki K, éditeur. Flowering plants, Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Berlin: Springer; 2011. 436 p. (The families and genera of vascular plants; vol. 10).
- [263] Famille des Myrtaceae [Le Monde des Phasmes / The World of Phasms (Leaf and Stick insects)] [Internet]. Disponible sur : <http://lemondedesphasmes.free.fr/spip.php?article119> [cité le 11 avril 2021].
- [264] Coppen JJW, éditeur. *Eucalyptus: the genus Eucalyptus*. London ; New York: Taylor & Francis; 2002. 450 p. (Medicinal and aromatic plants--industrial profiles).
- [265] Vaughan, G., *Eucalyptus globulus* Labill. In: Louppe, PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l’Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. Consulté le 8 octobre 2019

- [266] *Eucalyptus globulus* – Gommier bleu de Tasmanie [Internet]. Disponible sur : <https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/> [cité le 7 avril 2021].
- [267] Tasmanian blue gum tree, *Eucalyptus globulus*. Chromolithograph after a botanical illustration from Hermann Adolph Koehler's Medicinal Plants [Internet]. Disponible sur : <https://www.alamy.com/tasmanian-blue-gum-tree-eucalyptus-globulus-chromolithograph-after-a-botanical-illustration-from-hermann-adolph-koehlers-medicinal-plants-edited-by-gustav-pabst-koehler-germany-1887-image211125306.html> [cité le 9 avril 2021].
- [268] Les eucalyptus dans les reboisements. Rome; 1982. 753 p. (Collection FAO. Forêts).
- [269] Gommier bleu, *Eucalyptus commun*, *Eucalyptus globulus*: planter, cultiver, multiplier [Internet]. Disponible sur : <https://www.aujardin.info/plantes/eucalyptus-globulus.php> [cité le 11 avril 2021].
- [270] Doughty RW. The eucalyptus: a natural and commercial history of the gum tree. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 2000. 237 p. (Center books in natural history).
- [271] FAOMap 2008, in BOUVET., 2013 ; MEKELLECHE, 2015.
- [272] Feuilles d'*Eucalyptus globulus* [Internet]. Disponible sur : <https://www.pharmaingiphar.com/medecines-naturelles/phytotherapie/vertus-eucalyptus> [cité le 11 avril 2021].
- [273] Farah A, Fechtal M, Chaouch A. Effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivés au Maroc. *Biotechnol Agron Soc Environ*. 2002 ; 6(3):163-9.
- [274] Kouhila M, Kechaou N, Otmani M, Fliyou M, Lahsasni S. Experimental study of sorption isotherms and drying kinetics of moroccan *Eucalyptus globulus*. *Drying Technology*. 2002; 20(10):2027-39.
- [275] Gurav SS, Gurav NS, éditeurs. *Indian herbal drug microscopy*. New York: Springer; 2014. 207 p.
- [276] Norbert L. Coupe transversale de feuille d'*Eucalyptus leaf* 100x [Internet]. Disponible sur : <https://www.alamyimages.fr/coupe-transversale-de-feuille-d-eucalyptus-leaf-100x-image274363911.html> [cité le 9 avril 2021].
- [277] Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), éditeur. Assessment report on *Eucalyptus globulus* Labill., folium [Internet]. Disponible sur : [https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/draft-assessment-report-eucalyptus-globulus-labill-folium\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/draft-assessment-report-eucalyptus-globulus-labill-folium_en.pdf) [cité le 11 avril 2021].
- [278] Frezza C, Venditti A, Serafini M, Bianco A. Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceuticals of Lamiaceae. In: *Studies in Natural Products Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2019 p. 125-78. Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444641854000046> [cité le 11 avril 2021].
- [279] Djenane D, Lefsih K, Yangüela J, Roncalés P. Composition chimique et activité anti-Salmonella enteritidis CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à  $7 \pm 1$  °C. *Phytothérapie*. 2011;9(6):343-53.
- [280] Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H, Trabelsi N, Ksouri R, Valentín E, et al. Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(15):4147-56.
- [281] Dhakad AK, Pandey VV, Beg S, Rawat JM, Singh A. Biological, medicinal and toxicological significance of *Eucalyptus leaf* essential oil: a review: Biological, medicinal and toxicological significance of *Eucalyptus leaf* essential oil. *J Sci Food Agric*. 2018;98(3):833-48.

- [282] WHO, éditeur. WHO monographs on selected medicinal plants. Vol. 2. Geneva: World Health Organization; 2002. 357 p.
- [283] Melo Júnior J de M de A de, Damasceno M de BMV, Santos SAAR, Barbosa TM, Araújo JRC, Vieira-Neto AE, et al. Acute and neuropathic orofacial antinociceptive effect of eucalyptol. *Inflammopharmacol.* 2017;25(2):247-54.
- [284] Hu Z, Feng R, Xiang F, Song X, Yin Z, Zhang C, et al. Acute and subchronic toxicity as well as evaluation of safety pharmacology of eucalyptus oil-water emulsions. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(12):4835-45.
- [285] Hamel T., Sadou. S., Seriddi R., Boukhdir S., BoulemtafeS A. Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, n°59, mars 2018.
- [286] Marouf, Bariza; Zaarour, Siham; Sebti, M.. Enquête ethnobotanique sur l'usage des plantes utilitaires dans la région de Jijel. Mémoire d'INGENIORAT. 2006. UNIVERSITE DE JIJEL. <http://dspace.univ-jijel.dz:8080/xmlui/handle/123456789/9295> [cité le 09 sept 2021].
- [287] Merzouki, A., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J., 2000. Contribution to the knowledge of Rifi and traditional medicine.II: folk medicine in Ksar Lakbir district (NW Morocco). *Fitoterapia* 71, 278-307.
- [288] EL RHAFARI L, HAMMANI K., BENLYAS M., ZAID A. Traitement de la leishmaniose cutanée par la phytothérapie au Tafilalet. *Biologie & Santé* vol. 1, n° 4, 2002.
- [289] WHO. WHO Traditional Medicine Strategy. 2014-2023. WHO Publication. 2013.
- [290] Cakilcioglu U, Khatun S, Turkoglu I, Hayta S. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *J Ethnopharmacol.* sept 2011;137(1):469-86.
- [291] Carrió E, Vallès J. Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). *J Ethnopharmacol.* Juin 2012;141(3):1021-40.
- [292] Mikou, k., rachiq, s., oulidi, a.j. *Et al.* Etude ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques utilisées dans la ville de fes au maroc. *Phytotherapie* (2015). [Internet]. Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0965-8> [cité le 09 sept 2021].
- [293] Trabut L. Répertoire ds noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique. Imprimerie La Typo-Litho. Alger. 1935.
- [294] Fatima EH, Akka FB, Dahmani J, Belahbib N, Zidane L. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. . Vol. (2):12.
- [295] Briguiche\_et\_al.pdf [Internet]. Disponible sur : [http://www.israbat.ac.ma/wp-content/uploads/2020/07/Briguiche\\_et\\_al.pdf](http://www.israbat.ac.ma/wp-content/uploads/2020/07/Briguiche_et_al.pdf) [cité le 13 sept 2021].
- [296] Sánchez M, González-Burgos E, Iglesias I, Lozano R, Gómez-Serranillos MP. Current uses and knowledge of medicinal plants in the Autonomous Community of Madrid (Spain): a descriptive cross-sectional study. *BMC Complement Med Ther.* déc 2020;20(1):306.
- [297] Orch H, Zidane L, Douira A. Ethnobotanical study of plants used in the treatment of respiratory diseases in a population bordering the forest of Izarène. :18.
- [298] González JA, García-Barriuso M, Amich F. Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in the Arribes del Duero, western Spain. *J Ethnopharmacol.* sept 2010;131(2):343-55.
- [299] Upton, R et al. American Herbal Pharmacopoeia: Botanical Pharmacognosy-microscopic characterization of botanical medicines, London; New York, CRC press, Taylor & Francis Group, 733p.
- [300] DEQM. PHARMACOPÉE EUROPÉENNE. 7e ÉDITION, Strasbourg, le conseil de l'europe, TOMEI, (50), 15 juillet 2010,1404p.
- [301] Randall, L.; Selitto, J., *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1957, 111, 409-419.



- [302] Levy, J. H., & Kelly, A. B. (1993). Inflammation and cardiopulmonary bypass. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*, 40(11), 1009-1015.
- [303] Cocking T.T., Middleton G., 1935. Improved method for the estimation of the essential oil content of drugs. *Quarterly Journal of Pharmacy and Pharmacology* 8, 435-442.
- [304] Gonçalves, J.C.R., de Meneses, D.A., de Vasconcelos, A.P., Piauilino, C.A., Almeida, F.R. de C., Napoli, E. M., ... de Araújo, D.A.M. Essential oil composition and antinociceptive activity of *Thymus capitatus*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 2017, pp. 782-786.
- [305] Rojas, J., Palacios, O., Ronceros, S. The effect of the essential oil from *Aloysia triphylla* Britton (lemon verbena) on *Trypanosoma cruzi* in mice. *Peruvian Journal of Experimental Medicine and Public Health*, 29 (Issue: 1), 2012
- [306] Grondona, E. & Gatti, G. Bio-efficacy of the Essential Oil of Oregano (*Origanum vulgare* Lamiaceae. Ssp. *Hirtum*). *Plant Foods Hum Nutr*, 69, 2014, pp. 351-357.
- [307] Silva, J. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. *Journal of Ethnopharmacology* 89, 2003, pp. 277-283
- [308] Guan J, Tanaka S, Kawakami K. Anticonvulsants or Antidepressants in Combination Pharmacotherapy for Treatment of Neuropathic Pain in Cancer Patients, A Systematic Review and Meta-analysis, 32(8), 2015, pp. 25-719.
- [309] Kulkarni A.R, Ganguly K, Kiran Chaturvedi, Karale S and Singh R.M, Buzzer-Assisted Plethysmometer for the Measurement of Rat Paw Volume, *Ind J Pharm Edu Res*, Oct-Dec, 2011/ Vol 45/ Issue 4
- [310] W S Aji, Preliminary study plate capacitor as a Plethysmometer sensor, *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 403 (2018) 012036
- [311] M. Naseri, F. Mojab, M. Khodadoost, M. Kamalinejad, A. Davati, R. Choopani, The Study of Anti-Inflammatory Activity of Oil-Based Dill (*Anethum graveolens* L.) Extract Used Topically in Formalin-Induced Inflammation Male Rat Paw, *Iran J Pharm Res*. 2012 Autumn; 11(4): 1169-1174.
- [312] CLSI. Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Test supplement M100. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards.
- [313] Rasheeha. N et al. Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistan spices against *Salmonella* and other multi-drug resistant bacteria *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2013, 13:265.
- [314] Meena M.R., Sethi V. (1994). Antimicrobial activity of the essential oils from spices. *J. food Science and Technology Mysore*, 31: 68-70.
- [315] Ela M.A.A. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*, 51: 993-994.
- [316] Jeovetz L., Buchbauer G., Stoyanova A and Metodiev S. (2000). Seasonal depending variations of the composition and biological activities of Douglas fir (*Pseudotsugamenzlesil*) essential oils from Bulgaria, *Scientia Pharmaceutica*, Vol. 66, 323-328.
- [317] Shi H, Noguchi N, Niki E. Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymol*. 2001;335:157-66.
- [318] Galvinoxyl, free radical | Sigma-Aldrich [Internet]. Disponible sur : <http://www.sigmaaldrich.com/> [cité le 24 oct 2021].
- [319] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. mai 1999;26(9-10):1231-7.
- [320] ABTS Radical formation [Internet]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/figure/ABTS-Radical-formation\\_fig2\\_263969184](https://www.researchgate.net/figure/ABTS-Radical-formation_fig2_263969184) [cité le 5 nov 2021].
- [321] Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 1 avr 1958;181:1199-200.

- [322] Structure of DPPH and its reduction by an antioxidant [Internet]. Disponible sur : [https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-DPPH-and-its-reduction-by-an-antioxidant\\_fig1\\_283377931](https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-DPPH-and-its-reduction-by-an-antioxidant_fig1_283377931) [cité le 8 janv 2022].
- [323] R A, K G, M O, Se K. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry* [Internet]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15612784/> [cité le 12 janv 2022].
- [324] Scherer, R., Godoy, H.T., 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.* 112, 654–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>.
- [325] Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences.* janv 2021;22(7):3380.
- [326] Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology.* 1 juill 1961;7(2):88-95.
- [327] Ebru Deveci, Gulsen Tel-Çayan, and Mehmet Emin Duru Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta* INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD PROPERTIES. 2018, VOL. 21, NO. 1, 771–783
- [328] Muhammad Taha, Hayat Ullah, Laode Muhammad Ramadhan Al Muqarrabun, Muhammad Naseem Khan, Fazal Rahim, Norizan Ahmat, Muhammad Tariq Javid, Muhammad Ali, Khalid Mohammed Khan, Bisindolymethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 26 (2018) 152–160
- [329] Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica.* 1982;45(5):31-4.
- [330] Hamidi MR, Jovanova B, Panovska TK. Toxicological evaluation of the plant products using brine shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin.* 2014;60(1):9-18.
- [331] Oladimeji HO, Nia R, Essien EE. In vitro antimicrobial and brine shrimp lethality potential of the leaves and stem of *Calotropis procera* (Ait). *African Journal of Biomedical Research.* 2006;9:205-11.
- [332] Wodak S. J., Janin J. (1978). Computer analysis of protein-protein interactions. *J. Mol. Biol.* 124, 323-342.
- [333] Buléon A., Pérez S., Tran V. (2011) La modélisation moléculaire Visualiser, Calculer, Simuler. [En ligne]. <http://www.abi.snv.jussieu.fr/jompo/Public/PSF/modelisation.pdf>.
- [334] McCarthy D. J. (1999). Computational approaches to structure-based ligand design. *Pharmacology & Therapeutics.* 84: 179-191.
- [335] Geldenhuys W. J., Gaasch K. E., Watson M., Allen D. D., Van der Schyf C. J. (2006). Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *Drug Discovery Today.* 11: 127-132.
- [336] Qian Z., Fields C. J., Yu Y., Lutz S. (2007). Recent progress in engineering alpha/beta hydrolase-fold family members. *Biotechnology Journal.* 2: 192-200.
- [337] Damborsky J., Brezovsky J. (2009). Computational tools for designing and engineering biocatalysts. *Current Opinion in Chemical Biology.* 13 : 26-34.
- [338] Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem.* 30 janv 2010;31(2):455-61.
- [339] Protein Data Bank (PDB). Biological macromolecular Structures. [Enligne].

- <http://www.rcsb.org/>.
- [340] National Center for Biotechnology Information.PubChem. [En ligne].
- [341] SwissADME [En ligne] <http://www.swissadme.ch/>.
- [342] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 1 mars 2001;46(1 3):3 26.
- [343] Ghédira, K., & Goetz, P. Verveine odorante *Aloysia citriodora* Paláu (*Lippia citriodora*). *Phytothérapie*, 15(1), 2017, pp. 33–37.
- [344] Mkaddem, M. G., Romdhane, M., Ibrahim, H., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., & Bouajila, J. Essential Oil of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. from Matmata, Tunisia: Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis and Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Journal of Medicinal Food*, 13(6), 2010, pp.1500–1504.
- [345] Lakhrissi, B., Boukhraz, A., Barrahi, M., EL Hartiti, H & Ouhssine, M. Antifungal Activity of Essential Oil of *Oregano* (*Origanum Vulgare*), *Marjoram* (*Origanum Majorana*) and Synergy of Two Essential Oils against *Candida Albicans*. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*, 3, 2016, pp.14-17.
- [346] Boughendjioua, H., & Seridi, R. Antimicrobial Efficacy of the Essential Oil of *Origanum vulgare* From Algeria. *J Pharm Pharmacol Res*, 1 (1), 2017, pp.19-27.
- [347] Sebei, K., Sakouhi, F., Herchi, W., Khouja, M., & Boukhchina, S. Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biological Research*, 48(1), 2015, pp.1-5.
- [348] Propriétés huile essentielle Verveine citronnée / *Lippia citriodora* - Myrtea Formations [Internet]. Disponible sur : <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&rubrique=HE&act=fiche&ind=69> [cité le 22 janv 2022].
- [349] Huile essentielle Origan vulgaire Bio Lumiflor - Experts Huiles Essentielles [Internet]. Disponible sur : <https://www.experts-huiles-essentielles.com/fr/produit/origan-vulgaire-bio.php> [cité le 2 février 2022].
- [350] Bardeau F. *Les Huiles Essentielles*. Fernand Lanore; 2009. 321 p.
- [351] Haddouchi F, Lazouni HA, Meziane A, Benmansour A. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afr Sci Rev Int Sci Technol* [Internet]. Disponible sur : <https://www.ajol.info/index.php/afsci/article/view/61738>. [cité le 2 février 2022].
- [352] Di Leo Lira P., Van Baren CM, Retta D, Bandoni AL, Gil A, Gattuso M & Gattuso S. (2008) Characterization of Lemon Verbena (*Aloysia citriodora* Palau) from Argentina by the Essential Oil, *Journal of Essential Oil Research*, 20:4, 350-353, DOI: 10.1080/10412905.2008.9700028.
- [353] Jallal Z. J. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential oil from *Aloysia citriodora* Leaves (Verbenaceae) cultivated In Morocco. *Pharm. Sci. & Res.* Vol. 12(9), 2020, 1227-1232.
- [354] Ibrahim M. E., Mohamed M. A. & Khalid K A. (2015). Growth and essential oil composition affected by foliar nutrition application on lemon verbena plant. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (7) pp: 1824-1828.
- [355] Ibrahim M.E., Mohamed M.A. and. Khalid K.A. Effect of Growing Locations on the Essential Oil Content and Compositions of Lemon Verbena Shrubs under the Conditions of Egypt. *TEOP* 17 (2) 2014 pp 288 – 294. DOI:10.1080/0972060X.2014.895153.
- [356] Ziaei A, Ramezani M, Wright L, Paetz C, Schneider B, Amirghofran Z. Identification of spathulenol in *Salvia mirzayanii* and the immunomodulatory effects. *Phytother Res.* 2011 Apr;25(4):557-62.
- [357] Nascimento KF, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and

- antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. *J Ethnopharmacol.* 2018 Jan 10;210:351-358.
- [358] Goudjila M.B., Zighmi S., Hamada D., Mahcene Z., Bencheikha S.E. and Ladjel S. South African Journal of Botany 128 (2020) 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.11.020>.
- [359] Goncalves J-C.R., Andrade de Meneses D., Pereira de Vasconcelos A., Piauilino C.A., Regina de Castro Almeida F., ..., Machado de Araujo D.A. Essential oil composition and antinociceptive activity of *Thymus capitatus*. *Pharmaceutical Biology*, 2017 VOL. 55, NO. 1, 782–786. <http://dx.doi.org/10.1080/13880209.2017.1279672>.
- [360] Guedri Mkaddem M., Mehrez R., Ibrahim H., Ennajar M., Lebrihi A., Mathieu F. and Bouajila J. Essential Oil of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. from Matmata, Tunisia: Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis and Antimicrobial and Antioxidant Activities. *J. of Med. Food.* 13 (6) 2010, 1500–1504. DOI: 10.1089=jmf.2009.0117.
- [361] Megdiche-Ksouri W., Saada M., Soumaya B., Snoussi M., Zaouali Y., Ksouri R.. Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 2015. 23(4), 1046-1056.
- [362] Alessandra La Pergola, Cristina Restuccia, Edoardo Napoli, Salvatore Bella, Selina Brighina, Agatino Russo & Pompeo Suma (2017): Commercial and wild Sicilian *Origanum vulgare* essential oils : chemical composition, antimicrobial activity and repellent effects, *Journal of Essential Oil Research*, DOI : 10.1080/10412905.2017.1353448.
- [363] Grul'ová D., Caputo L., Elshafie H.S., Baranová B., De Martino L.,..., De Feo V.. Thymol Chemotype *Origanum vulgare* L. Essential Oil as a Potential Selective Bio-Based Herbicide on Monocot Plant Species. *Molecules.* 2020, 25, 595; DOI :10.3390/molecules25030595.
- [364] Afef Béjaoui, Hédia Chaabane, Maroua Jemli, Abdennacer Boulila, and Mohamed Boussaid (2013) : Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at Different Phenological Stages. *JOURNAL OF MEDICINAL FOODJ Med Food* 16 (12) 2013, 1115–1120 DOI : 10.1089/jmf.2013.0079.
- [365] Madani S. Etude biologique et phytochimique de l'origan (*Origanum vulgare* L. ssp *glandulosum* (Desf.) Letswaart) - Espèce endémique d'Algérie – Tunisie. Thèse de Doctorat, soutenue le 03/02/2011. Dépt de Biologie. Université Ferhat Abbas-SETIF
- [366] Boukhatem M.N., Amine F.M., Kameli A., Saidi F., Walid K, Mohamed SB. Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy Online*: 2014, Vol. 36, pp 303-315. doi:10.18052/www.scipress.com/ILCPA.36.303.
- [367] S. Benayache , F. Benayache , S. Benyahia , Jean-Claude Chalchat & Raymond-Philippe Garry (2001) Leaf Oils of some *Eucalyptus* Species Growing in Algeria, *Journal of Essential Oil Research*, 13:3, 210-213, DOI: 10.1080/10412905.2001.9699668.
- [368] Benabdesslem Y , Hachem K & Mébarki M. (2020) Chemical Composition of the Essential Oil from the Leaves of *Eucalyptus globulus* Labill. Growing in Southwest Algeria, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23:5, 1154-1160, DOI: 10.1080/0972060X.2020.1843549.
- [369] Chagas ACS, Passos WM, Prates HT, Leitem RC, Furlong J, Fortes ICP. Acaricide effect of *Eucalyptus* spp. EOs and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. *Braz J Vet Res Ann. Sci.* 2002;39:247-53.
- [370] Yang Y, Choi H, Choi W, Clark JM, Ahn Y. Ovicidal and adulticidal activity of

- Eucalyptus globulus leaf oil terpenoids against *Pediculus humanuscapitis* (Anoplura: Pediculidae). *J Agric Food Chem.* 2004;52:2507-11.
- [371] Derwich E, Benziane Z, Boukir A. GC/MS analysis of volatile constituents and antibacterial activity of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* in Atlas Median from Morocco. *Adv Nat Appl Sci.* 2009;3:305-13.
- [372] Karemu, C.K., Ndung'u, M.W., Githua, M. Repellent effects of EOs from selected *Eucalyptus* species and their major constituents against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 2013;33:188-94.
- [373] Barbosa LCA, Filomeno CA, Teixeira RR. Chemical Variability and Biological Activities of *Eucalyptus* spp. Essential Oils. *Molecules.* 2016;21(12):1671
- [374] Salud Pérez G., Miguel Zavala S., Lucina Arias G. and Miguel Ramos L. Anti-inflammatory Activity of Some Essential Oils. *Journal of Essential Oil Research*, 2011, 23(5):38-44 DOI: 10.1080/10412905.2011.9700480.
- [375] Sarmiento-Neto J.F., do Nascimento LG, Bezerra Felipe CF and de Sousa DP. Analgesic Potential of Essential Oils. *Molecules; Molecules* 2016, 21, 20; doi:10.3390/molecules21010020.
- [376] Da Silveira R.C., Cardoso Lima T., da Nóbrega F.R., Medeiros de Brito A.E. and Pergentino de Sousa D. Analgesic-Like Activity of Essential Oil Constituents: An Update. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 2392; doi:10.3390/ijms18122392
- [377] Angeles-López, G.; Pérez-Vásquez, A.; Hernández-Luis, F.; Déciga-Campos, M.; Bye, R.; Linares, E.; Mata, R. Antinociceptive effect of extracts and compounds from *Hofmeisteria schaffneri*. *J. Ethnopharmacol.* 2010, 131,425–432.
- [378] Fachini-Queiroz, F.C.; Kummer, R.; Estevão-Silva, C.F.; Carvalho, M.D.B.; Cunha, J.M.; Grespan, R.; Bersani-Amado, C.A.; Cuman, R.K.N. Effects of thymol and carvacrol, constituents of *Thymus vulgaris* L. essential oil, on the inflammatory response, *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2012, 2012, 1–10.
- [379] Santos, F.A.; Rao, V.S.N. Antiinflammatory and Antinociceptive Effects of 1,8-Cineole a Terpenoid Oxide Present in many Plant Essential Oils. *Phytoter. Res.* 2000, 14, 240–244.
- [380] Xianfei X., Xiaoqiang C and Shunying Z.G. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomelesspeciosa* from China, *Food Chemistry*, Vol. 100, 1312-1315.
- [381] Sandri I.G., Zacaria J., Fracaro F., Delamare A.P.L and Echeverrigaray S. (2007). Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against food borne pathogens and spoiling bacteria, *Food Chemistry*, Vol. 103, 823-828.
- [382] Zarai Z., Kadri A., Ben Chobba I., Ben Mansour R., Bekir A., Mejdoub A and Gharsallah N. (2011). The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia, *Lipids in Health and Disease*, Vol.10, 161-168.
- [383] Al-Bayati A.F. (2008). Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinellaanisum* essential oils and methanol extracts, *Ethnopharmacology*, Vol. 116, 403-406.
- [384] Randrianarivelo R., Sarter S., Odoux E., Brat P., Lebrun M., Romestand B., Menut C and Andrianoelisoa H.S, Raheirandimby M. and Danthu P. (2009). Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cinnamosma fragrans*, *Food Chemistry*, Vol. 114, 680-684.
- [385] Pezzani R., Vitalini S., Iriti M. (2017). Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: an update. *Phytochem Rev* (2017) 16:1253–1268. DOI 10.1007/s11101-017-9535-z.
- [386] Ragno R., Papa R., Patsilnakos A., Vrenna G, Garzoli S., Tuccio V., Fiscarelli E., Selan L. and Artini M. (2020). Essential oils against bacterial isolates from cystic fibrosis patients by means of antimicrobial and unsupervised machine learning

- approches. Scientific Reports volume 10, Article number: 2653. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59553-8>.
- [387] Gherairia N, Boukerche S, Chouikh A, Khoudir S., Chefrour A. (2019). Antibacterial activity of essential oils from two species of genus *Thymus* growing in different sites of north eastern algerian. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. Tom. XXVI, Issue: 2, 2019, pp. 100-104.
- [388] Amrouni S., Touati M., Hadeff Y., Djahou A. (2014). Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénèmes. *Phytothérapie*. 12, pages309–313. DOI 10.1007/s10298-014-0842-x.
- [389] Benslimani A and Meieddine C (2012) État de la résistance aux antibiotiques, d'autres espèces bactériennes et surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) : SARM, entérobactéries BLSE, *Acinetobacter* sp, *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème, à la ceftazidime et à la ciprofloxacine. In: Réseaux algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (ed) 13e rapport d'évaluation, pp. 65–88.
- [390] Balasubramanian D., Schnepfer L., Kumari H., Mathee, K. (2013). A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Nucleic Acids Res*. 41, 1–20. DOI: 10.1093/nar/gks1039
- [391] Bousquet A. and Mérens A. (2018). « *Pseudomonas aeruginosa* »: résistance aux antibiotiques, lecture et interprétation de l'antibiogramme. Doi : 10.1016/S2211-9698(18)67954-3
- [392] Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A., Zhiri A., (2012). Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de Pharmacie Clinique*, Volume 31, Numéro 3.
- [393] Džamić AM, Nikolić BJ, Giweli AA, Mitić-Ćulafić DS, Soković MD, Ristić MS, et al. Libyan *Thymus capitatus* essential oil: antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and colon pathogen adhesion-inhibition properties. *J Appl Microbiol*. août 2015;119(2):389-99.
- [394] Sakkas H, Papadopoulou C. Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils. *J Microbiol Biotechnol*. 28 mars 2017;27(3):429-38.
- [395] Horne D, Holm M, Oberg C, Chao S, Young DGary. Antimicrobial Effects of Essential Oils on *Streptococcus pneumoniae*. *J Essent Oil Res*. sept 2001;13(5):387-92.
- [396] Sadlon AE, Lamson DW. Immune-modifying and antimicrobial effects of Eucalyptus oil and simple inhalation devices. *Altern Med Rev J Clin Ther*. avr 2010;15(1):33-47.
- [397] Oukerrou MA, Tilaoui M, Mouse HA, Leouifoudi I, Jaafari A, Zyad A. Chemical Composition and Cytotoxic and Antibacterial Activities of the Essential Oil of *Aloysia citriodora* Palau Grown in Morocco. *Adv Pharmacol Sci*. 2017;2017:7801924.
- [398] Shafiee F, Moghadamnia AA, Shahandeh Z, Sadighian F, Khodadadi E. Evaluation of the antibacterial effects of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Aloysia Citriodora* (Lemon verbena) on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Electron Physician*. 25 déc 2016;8(12):3363-8.
- [399] Jaradat N, Hawash M, Abualhasan MN, Qadi M, Ghanim M, Massarwy E, et al. Spectral characterization, antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, and cyclooxygenase inhibitory activities of *Aloysia citriodora* essential oils collected from two Palestinian regions. *BMC Complement Med Ther*. 17 mai 2021;21(1):143.
- [400] De Nascimento L.D., Barbosa De Moraes A.A. , Santana da Costa K., Pereira Galúcio J.M., Taube P.S., ... , Eloisa Helena de Aguiar Andrade E.H and Guerreiro de Faria L.J. Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications. *Biomolecules* 2020, 10, 988; doi:10.3390/biom10070988.
- [401] Lanigan, R. S. and Yamarik, T. A. Final report on the safety assessment of BHT(1).

- Int. J. Toxicol. 2002, 21 (Suppl. 2), 19–94.
- [402] EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS). Scientific Opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. EFSA J. 2012, 10, 2588–2630.
- [403] Amorati R., Foti M.C., and Valgimigli L.. Antioxidant Activity of Essential Oils. J. Agric. Food Chem. 2013, 61, 10835–10847 dx.doi.org/10.1021/jf403496k.
- [404] Dudonné S., Vitrac X, Coutière P., Woillez M., and Mérillon J-M. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. J. Agric. Food Chem. 2009, 57, 1768–1774
- [405] Sadeer N.B., Montesano D., Albrizio S., Zengin G. and Mahomoodally M.F.. The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. Antioxidants 2020, 9, 709; doi:10.3390/antiox9080709
- [406] Aazza, S., Lyoussi, B., & Miguel, M. G. (2011). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds. Molecules, 16(9), 7672–7690. <https://doi.org/10.3390/molecules16097672>
- [407] Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., . . . & Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control, 15(8), 627–634. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.10.005>
- [408] Miguel, M.G., Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils : a short review. Molecules. 2010. 15,9252–9287.
- [409] Tepe B., Donmez E., Unlu M., Candan F., Daferera D., Vardar-Unlu G., Polissiou M., Sokmen A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret e tAucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). FoodChem. 2004. 84, 519–525.
- [410] Tagnaout I, Zerkani H., Hadi N, El Moumen B., El Makhoukhi F, . . . , and Zair T. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Thymus broussonetii* Boiss and *Thymus capitatus* (L.) Hoffmann and Link Essential Oils. Plants 2022, 11, 954. <https://doi.org/10.3390/plants11070954>.
- [411] Miura K. and N. Nakatani N. “Antioxidative activity of flavonoids from thyme (*Thymus vulgaris* L.). Agricultural and Biological Chemistry, vol. 53, pp. 3043–3045, 1989
- [412] Dighe, S.N.; Deora, G.S.; De la Mora, E.; Nachon, F.; Chan, S.; Parat, M.-O.; Brazzolotto, X.; Ross, B.P. Discovery and Structure—Activity Relationships of a Highly Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor by Structure-Based Virtual Screening. J. Med. Chem. 2016, 59, 7683–7689.
- [413] Miyazawa, M., Watanabe, H., Umemoto, K., Kameoka, H., 1998. Inhibition of acetylcholinesterase activity by essential oils of *Mentha* species. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, 3431–3434.
- [414] Öztürk, M., 2012. Anticholinesterase and antioxidant activities of Savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil. Food Chemistry 134: 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.054>.
- [415] Benabdallah A., Boumendjel M., Aissi O., Rahmoune C., Boussaidc M., Messaoud C. Chemical composition, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibitory of wild *Mentha* species from northeastern Algeria. South African Journal of Botany 116 (2018) 131–139.
- [416] Aazza, S.; Lyoussi, B.; Miguel, M.G. Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of Some Commercial Essential Oils and Their Major Compounds. Molecules 2011, 16, 7672–7690.

- [417] Kamilla Felipe do Nascimento, Flora Martinez Figueira Moreira, Joyce Alencar Santos, Candida Aparecida Leite Kassuya, Julio Henrique Rosa Croda, .. and João Ernesto de Carvalho, Anelise Samara Nazari Formagio. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. *J Ethnopharmacol.* . 2018 Jan 10;210:351-358. doi: 10.1016/j.jep.2017.08.030.
- [418] Džamić AM, Nikolić BJ, Giweli AA, Mitić-Ćulafić DS, Soković MD, Ristić MS, et al. Libyan *Thymus capitatus* essential oil: antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and colon pathogen adhesion-inhibition properties. *J Appl Microbiol.* août 2015;119(2):389-99.
- [419] Jaradat N, Hawash M, Abualhasan MN, Qadi M, Ghanim M, Massarwy E, et al. Spectral characterization, antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, and cyclooxygenase inhibitory activities of *Aloysia citriodora* essential oils collected from two Palestinian regions. *BMC Complement Med Ther.* déc 2021;21(1):143.
- [420] Olayinka J, Olawumi O, Olalekan M, Abimbola S, Idiat D, Theophilus A. Chemical composition, antioxidant and cytotoxic effects of *Eucalyptus globulus* grown in north-central Nigeria. 2012;9.
- [421] Leite et al. - 2009 - Preliminary study of the molluscicidal and larvici.pdf [Internet]. Disponible sur : <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/wybdxcr73hrwRSDxmZ5VfYt/?lang=en&format=pdf> [cité le 02 avril 2022].
- [422] Oladimeji HO, Nia R, Essien EE. In vitro antimicrobial and brine shrimp lethality potential of the leaves and stem of *Calotropis procera* (Ait). *African Journal of Biomedical Research.* 2006;9:205-11.





Enquêteur : Nom et Prénom / codeTYPE D'INFORMATEUR : CONSOMMATEURFiche N° :

**FICHE D'ENQUETE ETHNOPHARMACOLOGIQUE / USAGE DES PLANTES MEDICINALES  
ET AROMATIQUES DANS LE TRAITEMENT D'INJECTIONS RESPIRATOIRES /  
REGION DE NORD-EST ALGERIEN**

- **Région** : .....
- **Age** :
- **Genre/Sexe** : masculin  féminin
- **Niveau d'étude** : analphabète  primaire  secondaire  universitaire
- **Situation familiale** : célibataire  marié  divorcé  veuf

- **Traitement préconisé / utilisé :**

- |  |  |
|--|--|
| <p align="center"><b>-Médico-chirurgical</b></p> <p><i>médicinale)</i></p> <p><b>Pourquoi ?</b> : + efficace <input type="checkbox"/><br/>         : - couteux <input type="checkbox"/><br/>         : - toxique <input type="checkbox"/><br/>         : Bon pronostique <input type="checkbox"/><br/>         : Indiqué par un médecin <input type="checkbox"/></p> | <p align="center"><b>-Traditionnel (Plante</b></p> <p><b>Pourquoi ?</b> : + efficace <input type="checkbox"/><br/>         : - couteux <input type="checkbox"/><br/>         : - toxique <input type="checkbox"/><br/>         : Bon pronostic <input type="checkbox"/><br/>         : Indiqué par un médecin <input type="checkbox"/></p> |
|--|--|

- **Qu'elle est la plante que vous avez utilisée pour le traitement** ?.....

-**Quelle partie de la plante vous utilisez** ? Feuille  tige  racine  écorce  autres.....

-**Mode d'emploi** : infusion  macération  décoction  cataplasme  inhalation   
 autres.....

-**Efficacité du traitement** : .....

- **Récidivité** : oui  non

-**Lorsque vous voulez utiliser une plante vous vous adressez aux** : pharmaciens  médecins

Herboristes  Expérience des autres  livres

Enquêteur : Nom et Prénom / codeTYPE D'INFORMATEUR : CONNAISSEURFiche N° :

**FICHE D'ENQUETE ETHNOPHARMACOLOGIQUE / USAGE DES PLANTES MEDICINALES  
ET AROMATIQUES DANS LE TRAITEMENT D'INFECTIONS RESPIRATOIRES /  
REGION DE NORD-EST ALGERIEN**

- **Région** : .....
- **Age** :
- **Genre/Sexe** : masculin  féminin
- **Niveau d'étude** : analphabète  primaire  secondaire  universitaire
- **Type d'informateur** : herboriste  Pharmacien  médecin  ramasseur
- **Situation familiale** : célibataire  marié  divorcé  veuf

- **Qu'elles sont les plantes les plus recommandées pour le traitement d'affections respiratoires ?**

Affections respiratoires	Plantes	Parties utilisées de plantes	Lieu et période de récolte	Mode d'emploi
Toux	- - -	- - -	- - -	- - -
Angine	- - -	- - -	- - -	- - -
Grippe	- - -	- - -	- - -	- - -
Rhume	- - -	- - -	- - -	- - -
Rhinite / Pharyngite	- - -	- - -	- - -	- - -
Autres affections	- - -	- - -	- - -	- - -

- **Pourquoi avez-vous (conseillé / livré) le traitement traditionnel à base de plantes médicinales ?**

- + efficace
- - couteux
- - toxique
- Bon pronostic

**ANNEXE 03 :**

Enquêteur \_\_\_\_\_ :

.....

**Planche C****FICHE TECHNIQUE / QUESTIONNAIRE**

Université Constantine III BOUBNIDER Salah  
Faculté de Médecine – Département de Pharmacie  
Laboratoire de Pharmacognosie

**FICHE D'ENQUÊTE ETHNOPHARMACOLOGIQUE**

Région : .....

Sexe :      Masculin       Féminin       Age : .....

Profession / Niveau intellectuel : ...../.....

1. Connaissez-vous une plante médicinale appelée « ..... » ?

Oui       Non 

2. Si oui, pour qu'elle indication principale est-elle utilisée ?

.....

3. Quel est le nom local utilisé pour désigner cette plante ?

.....

4. Quelle est la partie utilisée de cette plante ?

.....

5. Sous quelle forme est-elle utilisée (mode de préparation) ?

 Macération     Infusion     Décoction      Autre: .....

6. Durée de traitement ?

.....

7. Avez-vous ou un de votre entourage déjà essayé le traitement par cette plante ?

Oui       Non 

8. Si oui, les résultats étaient :

 Positifs, y'a eu une guérison complète       Y'a eu une amélioration Négatifs, pas d'amélioration

9. Quelle était la source de cette plante :

 Herboristes       Cueillette sauvage

## ANNEXE 04 : Monographie de la verveine extraite de la « Pharmacopée Européenne éd 7.0 Tome 1 » page 1374

Verveine odorante (feuille de)

PHARMACOPÉE EUROPÉENNE 7.0

**Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (2.8.1) :** au maximum 3,0 pour cent.

**DOSAGE**

**Iode total.** A 1,000 g de varech pulvérisé, dans un creuset de silice de forme haute, ajoutez 5 mL d'eau R et 5 g d'hydroxyde de potassium R. Mélangez avec une baguette en magnésium. Chauffez au bain-marie. Ajoutez 1 g de carbonate de potassium R. Mélangez, ajoutez la pointe de la baguette en magnésium et les résidus de la drogue, puis desséchez, d'abord au bain-marie, puis à feu nu. Incinérez en augmentant progressivement la température sans dépasser 600 °C. Laissez refroidir. Ajoutez 20 mL d'eau R et chauffez doucement jusqu'à ébullition en remuant à l'aide d'un agitateur de verre. Filtrez le mélange chaud sur un filtre non plissé, dans une fiole conique. Lavez le résidu avec 4 fois 20 mL d'eau R chaude. Rincez le filtre et le creuset avec 50 mL d'eau R chaude. Réunissez les solutions. Laissez refroidir. Neutralisez avec de l'acide sulfurique dilué R en présence de solution de méthylorange R. Ajoutez 3 mL d'acide sulfurique dilué R et 1 mL d'eau de brome R. La solution est jaune. Après 5 min, ajoutez 0,6 mL d'une solution de phénol R à 50 g/L. La solution ne se trouble pas. Acidifiez avec 5 mL d'acide phosphorique R, puis ajoutez 0,2 g d'iodure de potassium R. Laissez reposer 5 min, à l'abri de la lumière. Ajoutez 1 mL de solution d'amidon R et titrez par le thiosulfate de sodium 0,01 M.

1 mL de thiosulfate de sodium 0,01 M correspond à 0,2115 mg d'iode.

**ÉTIQUETAGE**

L'étiquette indique l'espèce ou les espèces de varech utilisées.

01/2008:1834  
corrigé 6.3

**VERVEINE ODORANTE (FEUILLE DE)**

*Verbenae citriodoratae folium*

**DÉFINITION**

Feuilles séchées, entières ou fragmentées, d'*Aloysia citriodora* Palau (syn. *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Kuntze ; *Verbena triphylla* L'Hér. ; *Lippia citriodora* Kunth.).

**Teneur :**

- **actéoside** ( $C_{29}H_{36}O_{15}$  ;  $M_r$  625) : au minimum 2,5 pour cent, exprimé en acide férulique (drogue desséchée) ;
- **huile essentielle** : au minimum 3,0 mL/kg pour la drogue entière et au minimum 2,0 mL/kg pour la drogue fragmentée (drogue desséchée).

**CARACTÈRES**

Lorsqu'elle est broyée, la drogue à examiner présente une odeur caractéristique rappelant celle du citron.

**IDENTIFICATION**

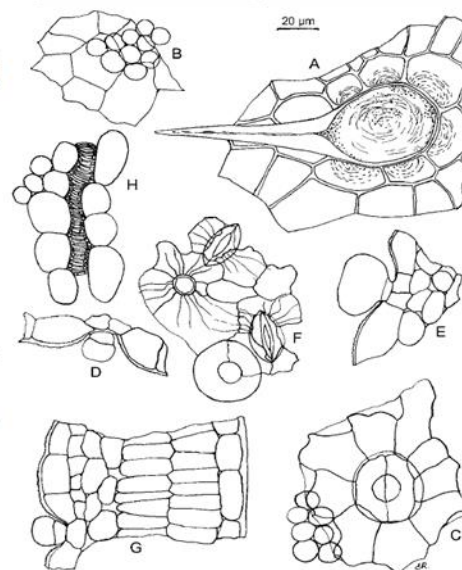
- A. Les feuilles sont simples, courtement pétiolées. Elles sont étroites, lancéolées, environ 4 fois plus longues que larges. Les bords, entiers, ondulés, sont recourbés vers la face supérieure. La face supérieure est vert foncé et rugueuse au toucher ; la face inférieure, d'un vert plus pâle, présente une nervure médiane saillante et des nervures secondaires dirigées vers les bords.
- B. Réduisez la drogue en poudre (355) (2.9.12). La poudre est vert clair. Examinez au microscope en utilisant de la solution d'hydrate de chloral R. La poudre présente les éléments suivants : des fragments de l'épiderme supérieur du limbe, vus de face, composés de cellules polygonales, de nombreux poils cystolithiques courts, unicellulaires, à parois épaisses, dont la base est entourée de cellules disposées en rosette ; absence de stomates ; des fragments de l'épiderme inférieur du limbe composés de cellules

plus irrégulières, aux contours plus ou moins sinueux, de nombreux stomates anomocytiques (2.8.3) et de nombreux poils sécréteurs, subsessiles, à tête globuleuse ; des fragments des parenchymes du mésophylle ; des faisceaux de vaisseaux, des nervures.

- C. Examinez les chromatogrammes obtenus dans l'essai de *Verbena officinalis*.

**Résultats :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner. Des bandes situées en-dessous de la bande due à la rutine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Arbutoside : une bande bleue ou brune	Une bande vert-gris intense
Rutine : une bande jaune-brun foncé	Une bande bleue ou violette
Solution témoin	Solution à examiner



- A. Epiderme supérieur, avec poil cystolithique, accompagné de cellules annexes contenant des concrétions calcaïques
- B et C. Epiderme supérieur, vu de face, accompagné de parenchyme palissadique et de poil sécréteur (C)
- D et E. Poils sécréteurs, vus en section transversale
- F. Epiderme inférieur, vu de face, présentant une cuticule striée, stomates anomocytiques et poil sécréteur
- G. Limbe de la feuille, vu en section transversale
- H. Parenchyme du mésophylle, avec vaisseau lignifié

Figure 1834-1. – Dessin pour l'identification de la feuille de verveine odorante (voir Identification B)

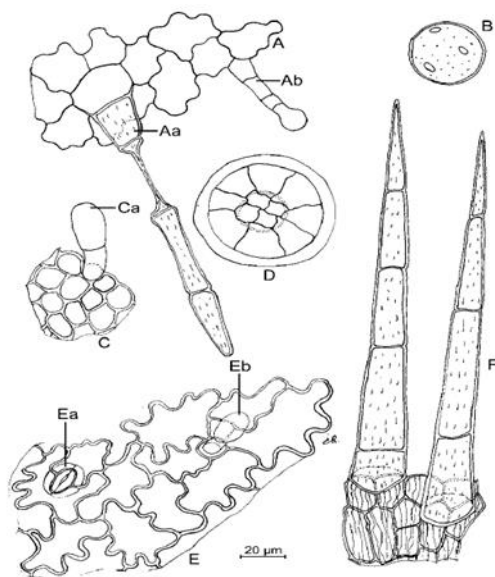


## ANNEXE 05 : Monographie du Thym extraite de la « Pharmacopée Européenne éd 7.0 Tome 1 » page 1364-1365

Thym

PHARMACOPÉE EUROPÉENNE 7.0

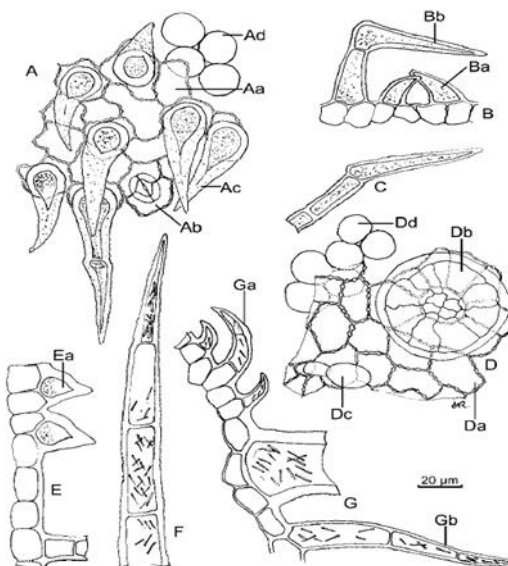
chapelet et des stomates de type diacytique (2.8.3) ; de nombreux poils sécréteurs composés de 12 cellules sécrétrices dont la cuticule commune est soulevée par la sécrétion et prend la forme d'une vésicule globuleuse ou ovoïde ; des poils glanduleux à pédicelle unicellulaire et à tête globuleuse ou ovoïde ; des poils tecteurs de l'épiderme adaxial, communs aux 2 espèces, à paroi verruqueuse, en forme de dents pointues ; des poils tecteurs verruqueux de l'épiderme abaxial, de plusieurs types : unicellulaires dressés ou légèrement incurvés et bicellulaires ou tricellulaires, articulés, le plus souvent coulés (*Thymus vulgaris*) ; des poils bicellulaires ou tricellulaires, plus ou moins dressés (*Thymus zygis*). Les fragments du calice sont recouverts par de nombreux poils articulés, unisériés, formés de 5-6 cellules, à parois faiblement striées. Les fragments de la corolle portent de nombreux poils tecteurs unisériés, souvent collabés, et des poils sécréteurs composés généralement de 12 cellules. Les grains de pollen, relativement rares, sont sphériques, lisses, à 6 pores germinatifs en fente et mesurent environ 35 µm de diamètre. La poudre de *Thymus zygis* contient, en outre, de nombreux faisceaux épais de fibres provenant des nervures principales et des fragments de tiges.



A. Epiderme de la surface externe de la corolle, vu de face, présentant un poil tecteur avec une cellule collabée (Aa) et un poil glanduleux à tête unicellulaire (Ab)  
B. Grain de pollen à 6 pores germinatifs (dont 3 seulement sont visibles dans le dessin)  
C. Epiderme de la corolle inférieure avec poil glanduleux (Ca)

D. Poil sécréteur à 12 cellules  
E. Epiderme externe de la corolle supérieure, vu de face, avec stomates diacytiques (Ea) et poil glanduleux (Eb)  
F. Epiderme du calice, vu de face, avec poils tecteurs

Figure 0865-1. – Dessin pour l'identification de *Thymus vulgaris* L. (voir Identification B)



A. Epiderme supérieur, vu de face, à cellules à épaississement en forme de chapelet (Aa), stomates diacytiques (Ab) et poils tecteurs à parois verruqueuses (Ac), avec parenchyme palissadique sous-jacent (Ad)

B et E. Epiderme, vu en section transversale, avec poils tecteurs unicellulaires (Ba, Ea) et poil tecteur bicellulaire articulé (Bb)

C. Poil tecteur tricellulaire articulé

D. Epiderme supérieur, vu de face, à cellules à épaississement en forme de chapelet (Da), poil sécréteur à 12 cellules sécrétrices (Dc), et poil glanduleux à tête unicellulaire (Dd), avec parenchyme palissadique sous-jacent (Dd)

F. Poil tecteur pluricellulaire de la base du limbe (*T. zygis*)

G. Epiderme, vu en section transversale, avec poils tecteurs bicellulaires (Ga) et tricellulaires (Gb) (*T. zygis*)

Figure 0865-2. – Dessin pour l'identification de *Thymus zygis* L. (voir Identification B)

C. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** A 1,0 g de thym pulvérisé (355) (2.9.12), ajoutez 5 mL de chlorure de méthylène R et agitez pendant 3 min. Filtrez sur environ 2 g de sulfate de sodium anhydre R.

**Solution témoin.** Dissolvez 5 mg de thymol R et 10 µL de carvacrol R dans 10 mL de chlorure de méthylène R.

**Plaque :** plaque au gel de silice F<sub>254</sub> pour CCM R.

**Phase mobile :** chlorure de méthylène R.

**Dépôt :** 20 µL en bandes.

**Développement :** sur un parcours de 15 cm.

**Séchage :** à l'air.

**Détection A :** examinez en lumière ultraviolette à 254 nm.

**Résultats A :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner.

Haut de la plaque	
Thymol : une bande d'atténuation de fluorescence	Une bande d'atténuation de fluorescence marquée Une bande d'atténuation de fluorescence (thymol)
Solution témoin	Bandes d'atténuation de fluorescence Solution à examiner

**Détection B :** pulvérisez 10 mL de solution d'aldéhyde anisique R pour une plaque de 200 mm de côté. Chauffez à 100-105 °C pendant 10 min.

**Résultats B :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes sont également présentes dans le tiers inférieur du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner. L'intensité des bandes dues au thymol et au carvacrol est fonction de l'espèce examinée.

Haut de la plaque	
Thymol : une bande rose-brun Carvacrol : une bande violet clair	Une bande rose-brun (thymol) Une bande violet clair (carvacrol)
Solution témoin	Une bande rose-gris Une bande violette (cinéole et linalol) Une bande brun-gris (bornéol) Une bande bleu-violet Une bande intense violette Solution à examiner

D. Examinez les chromatogrammes obtenus dans le dosage de thymol et du carvacrol.

**Résultats :** les pics caractéristiques du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner sont semblables quant à leur temps de rétention aux pics du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

#### ESSAI

**Éléments étrangers (2.8.2) :** au maximum 10 pour cent de tiges et au maximum 2 pour cent d'autres éléments étrangers. Les tiges ne doivent pas avoir un diamètre supérieur à 1 mm et une longueur supérieure à 15 mm. Des feuilles portant de longs poils à leur base et faiblement pubescentes aux autres parties (*Thymus serpyllum* L.) sont absentes.

**Eau (2.2.13) :** au maximum 100 mL/kg, déterminé sur 20,0 g de thym pulvérisé (355) (2.9.12).

**Cendres totales (2.4.16) :** au maximum 15,0 pour cent.

**Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique (2.8.1) :** au maximum 3,0 pour cent.

#### DOSAGE

**Huile essentielle (2.8.12).** Utilisez 30,0 g de thym, un ballon de 1000 mL et 400 mL d'eau R comme liquide d'entraînement. Distillez à un débit de 2-3 mL/min pendant 2 h, sans xylène R dans le tube gradué.

**Thymol et carvacrol.** Chromatographie en phase gazeuse (2.2.28) : utilisez le procédé de normalisation.

**Solution à examiner.** Filtrez l'huile essentielle obtenue par le dosage de l'huile essentielle sur une petite quantité de sulfate de sodium anhydre R et complétez à 5,0 mL avec de l'hexane R en rinçant l'appareil et le sulfate de sodium anhydre.

**Solution témoin.** Dissolvez 0,20 g de thymol R et 50 mg de carvacrol R dans de l'hexane R et complétez à 5,0 mL avec le même solvant.

#### Colonne :

- matériau : silice fondue,
- dimensions : l = 30-60 m, Ø = 0,25 mm,
- phase stationnaire : macrogol 20 000 R (épaisseur du film 0,25 µm).

**Gaz vecteur :** azote pour chromatographie R ou hélium pour chromatographie R.

**Débit :** 1-2 mL/min.

**Rapport de division :** 1:100.

**Température :**

	Intervalle (min)	Température (°C)
Colonne	0 - 45	40 → 220
Chambre à injection		190
Détecteur		210

**Détection :** ionisation de flamme.

**Injection :** 0,2 µL.

**Ordre d'élution :** ordre indiqué pour la préparation de la solution témoin. Notez les temps de rétention de ces substances.

**Conformité du système :** solution témoin :

- résolution : au minimum 1,5 entre les pics dus au thymol et au carvacrol.

A l'aide des temps de rétention déterminés à partir du chromatogramme obtenu avec la solution témoin, localisez les composants de la solution témoin sur le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Déterminez la teneur pour cent en thymol et en carvacrol.

01/2008:1374

## THYM (HUILE ESSENTIELLE DE)

### Thymi aetheroleum

#### DÉFINITION

Huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des parties aériennes fleuries fraîches de *Thymus vulgaris* L., de *T. zygis* Loefl. ex L. ou d'un mélange des 2 espèces.

#### CARACTÈRES

**Aspect :** liquide mobile, limpide, de couleur jaune ou brun-rouge très foncé.

**Odeur caractéristique,** aromatique, épicée, rappelant celle du thymol.

**Solubilité :** miscible à l'éthanol et à l'éther de pétrole.

#### IDENTIFICATION

**Première identification :** B.

**Seconde identification :** A.

A. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** Dissolvez 0,2 g d'huile essentielle de thym dans du pentane R et complétez à 10 mL avec le même solvant.

**Solution témoin.** Dissolvez 0,15 g de thymol R, 25 mg d' $\alpha$ -terpinéol R, 40 µL de linalol R et 10 µL de carvacrol R dans du pentane R et complétez à 10 mL avec le même solvant.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R.

**Phase mobile :** acétate d'éthyle R, toluène R (5:95 V/V).

**Dépôt :** 20 µL, en bandes.

**Développement :** sur un parcours de 15 cm.

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** pulvérisez de la solution d'aldéhyde anisique R et chauffez la plaque à 100-105 °C pendant 5-10 min tout en l'observant. Examinez à la lumière du jour.



**ANNEXE 06 : monographie d'origan extraite de la « Pharmacopée Européenne éd 7.0****Tome 1 » page 1303**

PHARMACOPÉE EUROPÉENNE 7.0

Origan

01/2011:1880

**ORIGAN**

Origani herba

**DÉFINITION**

Feuilles et fleurs séchées, détachées des tiges, d'*Origanum onites* L., d'*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietsw. ou d'un mélange des 2 espèces.

**Teneur :**

- **huile essentielle** : au minimum 25 mL/kg (drogue anhydre),
- **somme des teneurs en carvacrol et thymol** (chacun  $C_{10}H_{14}O$ ;  $M_r$  150,2) : au minimum 60 pour cent dans l'huile essentielle.

**IDENTIFICATION**

A. *O. onites*. La feuille est vert-jaune et mesure généralement 4-22 mm de long et 3-14 mm de large ; elle est longuement ou brièvement pétiolée, ou sessile ; le limbe est ovale, elliptique ou ovale-lancéolé, à bords entiers ou en dents de scie, à sommet acuminé ou obtus ; la nervation jaunâtre est bien visible sur la face adaxiale. Les fleurs sont solitaires ou proviennent de fragments des corymbes ; le calice, de même aspect que la bractée, est discret ; la corolle est blanche, au sommet d'inflorescences ou de fleurs isolées, ou peu visible ; les bractées sont imbriquées et de même couleur verte que les feuilles. Des fragments de tiges brun-jaune ou jaunâtres sont présents.

*O. vulgare* (subsp. *hirtum*). La feuille est verte et mesure généralement 3-28 mm de long et 2,5-19 mm de large ; elle est pétiolée ou sessile ; le limbe est ovale ou ovale-elliptique, à bords entiers ou en dents de scie, à sommet acuminé ou obtus. Les fleurs sont rares et proviennent de fragments des corymbes ; les bractées de couleur jaune-vert sont imbriquées ; le calice, de même aspect que la corolle, est discret ; la corolle est blanche et au sommet d'inflorescences peu ou très peu apparentes.

B. Réduisez l'origan en poudre (710) (2.9.12). La poudre est verte (*O. vulgare*) ou vert-jaune (*O. onites*). Examinez au microscope en utilisant de la solution d'hydrate de chloral R (figure 1880-1).

La poudre d'*O. onites* présente des fragments d'épiderme foliaire [A, D, G] constitué de cellules à parois sinueuses, de stomates diacytiques (2.8.3) [Ga], de poils tecteurs et de poils sécréteurs ; les poils sécréteurs sont de 2 sortes : les uns de type *lamiaceae*, à 8-16 cellules, vus de face [Da], les autres, très fréquents, à tête unicellulaire et pied uni- [Gc], bi- [H] ou tricellulaire ; les poils tecteurs sont à paroi épaisse et lisse ; les uns sont pluricellulaires [B, Gb], souvent brisés [Aa] et contiennent des prismes d'oxalate de calcium ; les autres, rares, sont unicellulaires et coniques [C] ; des cicatrices de poils tecteurs ou sécréteurs sont visibles sur les épidermes [Gd, Ge] ; les grains de pollen, à exine lisse, sont fréquents [E, F].

La poudre d'*O. vulgare* subsp. *hirtum* présente des fragments de l'épiderme supérieur à cellules à parois sinueuses en chapelet, accompagné de parenchyme palissadique [J] ; des fragments de l'épiderme inférieur [N] composé de cellules à parois finement et irrégulièrement épaissies, de stomates diacytiques (2.8.3) [Na], de poils tecteurs et de poils sécréteurs ; les poils sécréteurs sont de 2 sortes : les uns de type *lamiaceae*, à 12 cellules, vus de face [Nb], les

autres, peu abondants, à tête unicellulaire [Nc] et pied bi- ou tricellulaire ; les poils tecteurs sont à paroi épaisse et verruqueuse et contiennent de fines aiguilles d'oxalate de calcium ; les uns sont coniques, pluricellulaires et en dents de scie [L, M] ; les autres, rares, sont unicellulaires [K] ; les grains de pollen, à exine lisse, sont peu fréquents [E, F].

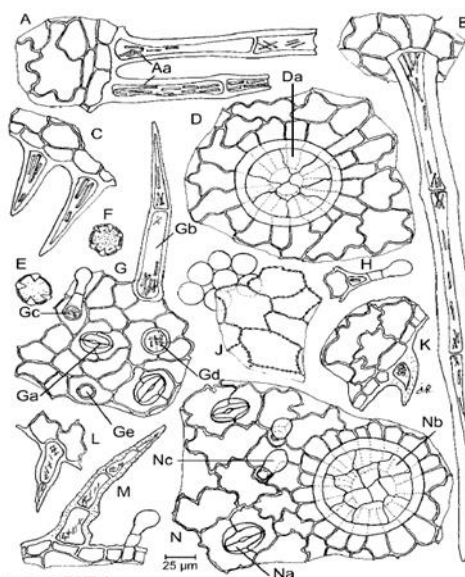


Figure 1880-1.– Dessin pour l'identification B de l'origan pulvérisé

C. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

**Solution à examiner.** A 1,0 g d'origan pulvérisé (355) (2.9.12), ajoutez 5 mL de chlorure de méthylène R et agitez pendant 3 min. Filtré sur environ 2 g de sulfate de sodium anhydre R.

**Solution témoin.** Dissolvez 1 mg de thymol R et 10 µL de carvacrol R dans 10 mL de chlorure de méthylène R.

**Plaque :** plaque au gel de silice pour CCM R.

**Phase mobile :** chlorure de méthylène R.

**Dépôt :** 20 µL en bandes.

**Développement :** sur un parcours de 15 cm.

**Séchage :** à l'air.

**Détection :** pulvérisez de la solution d'aldéhyde anisique R à raison de 10 mL pour une plaque de 200 mm de côté ; chauffez à 100-105 °C pendant 10 min.

**Résultats :** voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes sont également présentes dans le tiers inférieur et la partie supérieure du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.



## ANNEXE 07 : monographie d'Eucalyptus extraite de la « Pharmacopée Européenne éd 7.0

## Tome 1 » page 1218

Eucalyptus (feuille d')

PHARMACOPÉE EUROPÉENNE 7.0

Conformité du système : solution témoin (b) :

– résolution : au minimum 3,5 entre les pics dus à la terbutaline et à l'éphédrine.

Calculez la teneur pour cent en éphédrine à l'aide de l'expression suivante :

$$\frac{A_1 \times m_2 \times p \times 165,2}{A_2 \times m_1 \times 5 \times 201,7}$$

- $A_1$  = surface du pic dû à l'éphédrine dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
- $A_2$  = surface du pic dû à l'éphédrine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a),
- $m_1$  = masse de drogue à examiner utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,
- $m_2$  = masse de chlorhydrate d'éphédrine SCR utilisée pour préparer la solution témoin (a), en grammes,
- $p$  = teneur pour cent en chlorhydrate d'éphédrine dans le chlorhydrate d'éphédrine SCR.

01/2008:1320

## EUCALYPTUS (FEUILLE D')

## Eucalypti folium

## DÉFINITION

Feuille séchée, entière ou coupée, récoltée sur les rameaux plus âgés d'*Eucalyptus globulus* Labill.

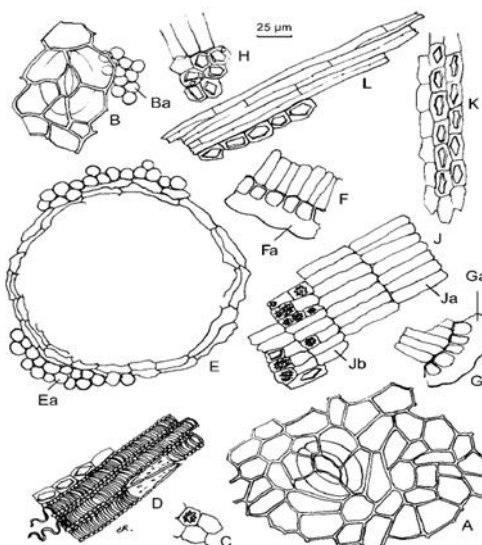
Teneur : au minimum 20 mL/kg d'huile essentielle dans la drogue entière (drogue anhydre) et au minimum 15 mL/kg d'huile essentielle dans la drogue coupée (drogue anhydre).

## CARACTÈRES

Odeur aromatique de cinéole.

## IDENTIFICATION

- A. La feuille est généralement vert-gris, assez épaisse, de forme allongée, elliptique et légèrement falciforme, en général d'une longueur de 25 cm et d'une largeur atteignant 5 cm. Le pétiole est tordu, fortement ridé et d'une longueur de 2-3 cm, atteignant parfois 5 cm. La feuille, rigide et coriace, est entière et glabre ; elle présente une nervure centrale vert-jaune. Les nervures secondaires s'anastomosent sur les bords de la feuille en une ligne continue. Les bords sont réguliers et légèrement épaissis. Les 2 faces sont ponctuées de minuscules taches verruqueuses brun foncé, réparties de façon irrégulière. De petites poches sécrétrices sont visibles par transparence.
- B. Réduisez la feuille d'eucalyptus en poudre (355) (2.9.12). La poudre est vert-gris. Examinez au microscope en utilisant de la solution d'hydrate de chloral R. La poudre présente les éléments suivants : des fragments de limbe glabre à petites cellules épidermiques à paroi épaisse, comportant une épaisse cuticule, de nombreux stomates anomocytiques (2.8.3) d'un diamètre supérieur à 80 µm, et parfois des groupes de cellules subéreuses brunes, d'un diamètre de 300 µm et dont le centre est noir-brun ; des fragments de mésophylle isobilatéral avec 2-3 couches de tissu palissadique de chaque côté et au centre plusieurs couches de parenchyme lacuneux à cellules allongées dans la direction des cellules palissadiques et contenant des prismes et macles d'oxalate de calcium ; des fragments de mésophylle contenant de grandes poches sécrétrices schizogènes.



A. Cellules épidermiques à paroi épaisse et stomates anomocytiques, vus de face

B. Cellules épidermiques à paroi épaisse et stomates anomocytiques, accompagnés de parenchyme palissadique (Ba), vus de face

C. Cellules de parenchyme avec macle d'oxalate de calcium

D. Vaisseaux de bois

E. Poche sécrétrice schizogène accompagnée de parenchyme palissadique (Ea)

F et G. Epiderme recouvert d'une cuticule épaisse (Fa et Ga), vu en section transversale

H et J. Parenchyme palissadique (Ja) accompagné de parenchyme lacuneux (Jb) contenant des prismes et des macles d'oxalate de calcium

K. Cellules contenant des prismes d'oxalate de calcium

L. Fibres

Figure 1320.-1. – Dessin pour l'identification de la feuille d'eucalyptus (voir Identification B)

- C. Chromatographie sur couche mince (2.2.27).

Solution à examiner. Agitez 0,5 g de feuille d'eucalyptus récemment pulvérisée (355) (2.9.12) avec 5 mL de toluène R pendant 2-3 min, puis filtrez sur environ 2 g de sulfate de sodium anhydre R.

Solution témoin. Dissolvez 50 µL de cinéole R dans du toluène R et complétez à 5 mL avec le même solvant.

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : acétate d'éthyle R, toluène R (10:90 V/V).

Dépôt : 10 µL, en bandes.

Développement : sur un parcours de 15 cm.

Séchage : à l'air.

Détection : pulvérisez de la solution d'aldéhyde anisique R. Examinez à la lumière du jour, en chauffant à 100-105 °C pendant 5-10 min.

Résultats : le chromatogramme obtenu avec la solution témoin présente dans sa partie médiane une bande principale due au cinéole. Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente une bande principale semblable quant à sa position et sa coloration à la bande due au cinéole dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin ; il présente également une bande violet intense (hydrocarbures) près du front du solvant. Il peut également présenter d'autres bandes plus faibles.

**ANNEXE 08 : monographie d'Origan extraite de "Atlas of Microscopy of Medicinal Plants, Herbs, Spices" page 156-4157**

156

ATLAS OF MICROSCOPY

**MARJORAM***Origanum vulgare* L

Labiatae

**Wild Marjoram, Oregano**

Occurs as the fresh or dried leaves, stems and flowering heads; the flowers and the surrounding bracts are a deep pinkish-purple. It has a strong, aromatic, characteristic odour and a warm, aromatic and slightly bitter taste.

The diagnostic characters are:

(a) The *upper epidermis of the leaf*, which, in surface view, is composed of cells with sinuous to wavy walls sometimes showing occasional beading although in the regions over the veins the walls are distinctly thickened and beaded; *diacytic stomata* occur only rarely; the underlying palisade cells are small and closely packed. The cells of the *lower epidermis* are smaller than those of the upper epidermis and the thin walls are markedly sinuous; numerous diacytic stomata are present. *Glandular trichomes* are abundant on both surfaces and those which are more conspicuous are of the typical labiate type with a short, unicellular stalk and a radiate head composed of a number of indistinct cells around which the common cuticle is raised to form a bladder; the epidermal cells surrounding these glands are arranged to form a rosette. Capitate glandular trichomes are also widely distributed and the majority of these are composed of a unicellular stalk and a small ovoid to spherical unicellular head, but occasional glands occur in which the stalk is uniseriate and composed of two or, rarely, three cells. *Covering trichomes* also occur scattered on both epidermises, particularly over the veins; they are uniseriate with from two to six cells, conical and bluntly pointed and sometimes curved at the apex; the walls are slightly thickened and show scattered longitudinal striations.

(b) The leaf is dorsiventral and *in sectional view* shows a single-layered palisade under the upper epidermis; the vascular tissue of the veins contains small, lignified *vessels*, with spiral or annular thickening.

(c) The *epidermis of the stem* in surface view, is composed of rather irregular, polygonal cells with a strongly striated *cuticle*; occasional diacytic stomata occur and both glandular and covering trichomes, similar to those on the leaf, are also present. The lignified vascular tissue contains occasional *fibres*, *xylem parenchyma* and *vessels* showing bordered pits or annular thickening.

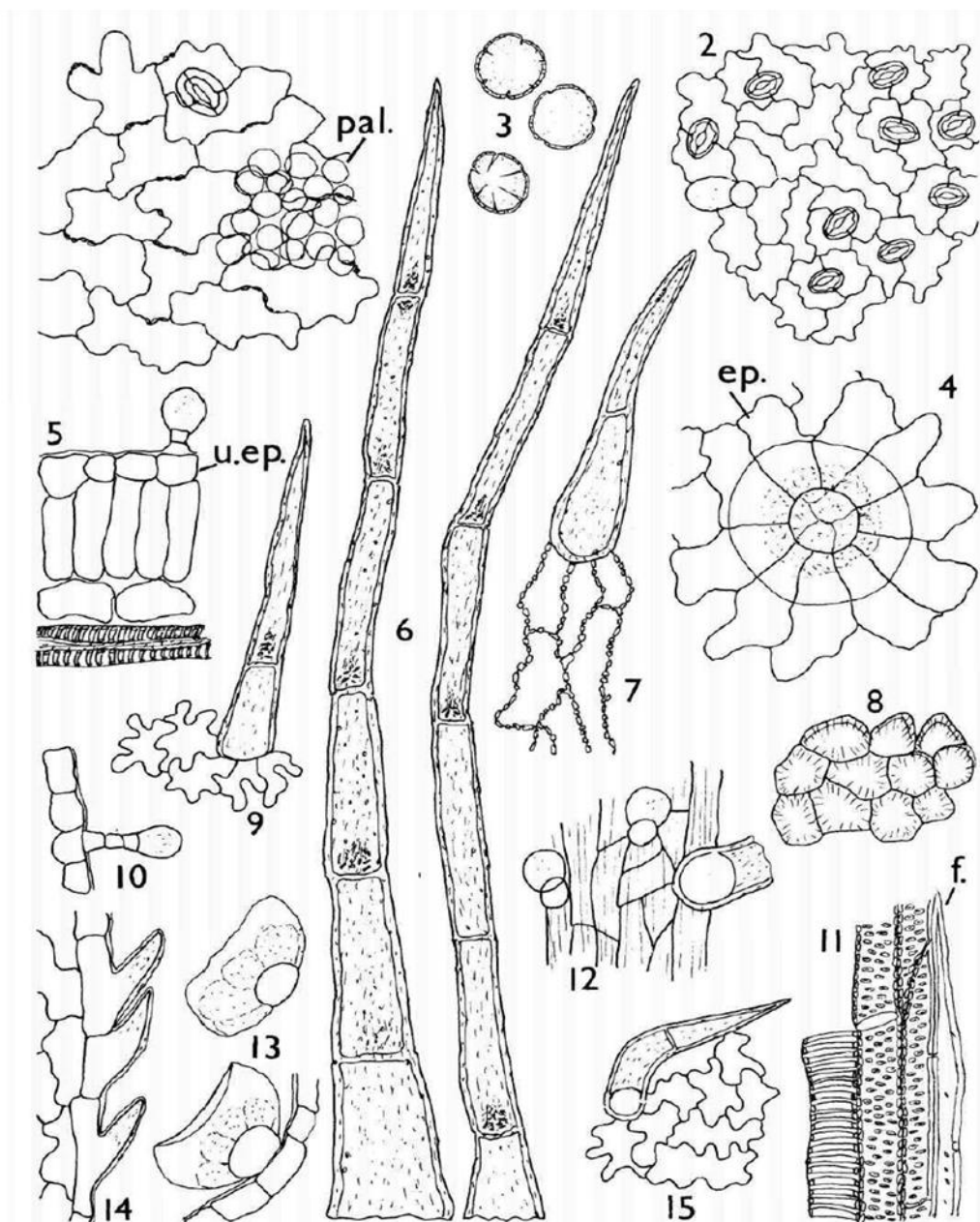
(d) The *bracts* are similar to the leaves but in addition have a single row of *teeth* along the margins; these are thin-walled and show faint longitudinal striations.

(e) The *outer epidermis of the calyx* is also similar to that of the leaf, although stomata are not abundant. The *inner epidermis* shows very numerous, long, covering trichomes in the region at the base of the calyx teeth.

(f) The cells of the *outer epidermis of the corolla* have very sinuous walls and glandular trichomes occur abundantly, also some covering trichomes. The cells of the *inner epidermis* are *papillose*.

(g) The *pollen grains* are small, spherical, with six pores and furrows and a smooth or finely pitted exine.

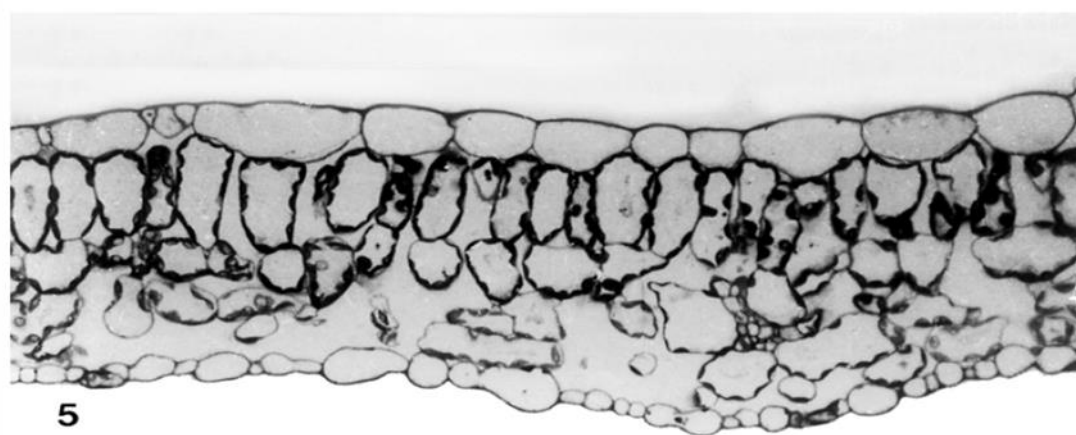
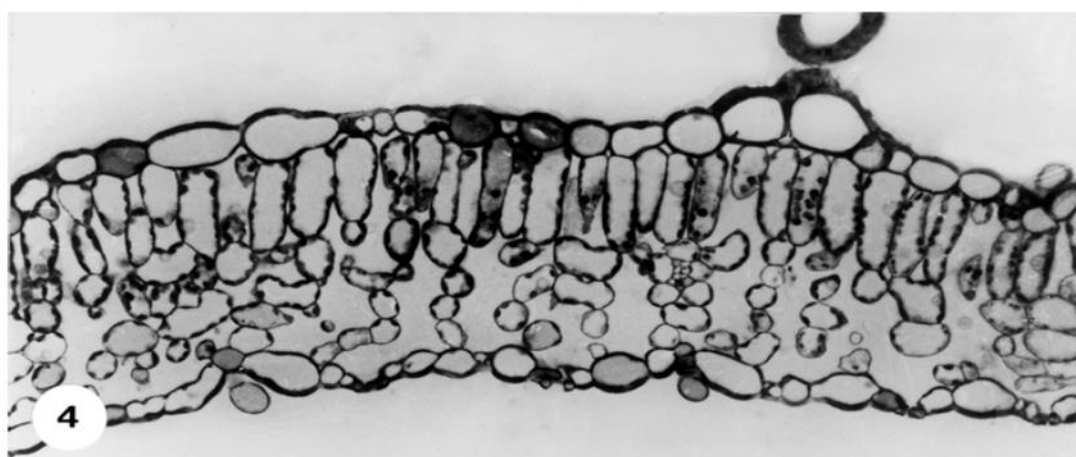
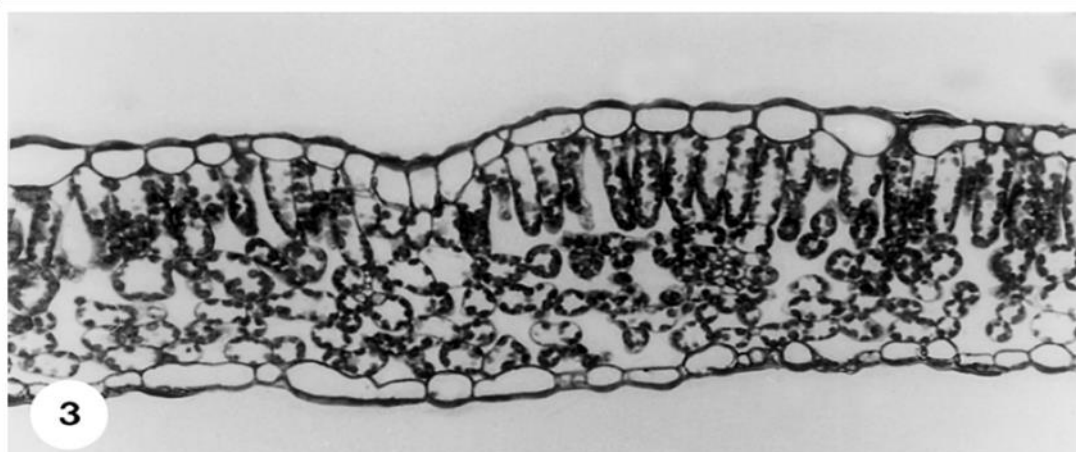




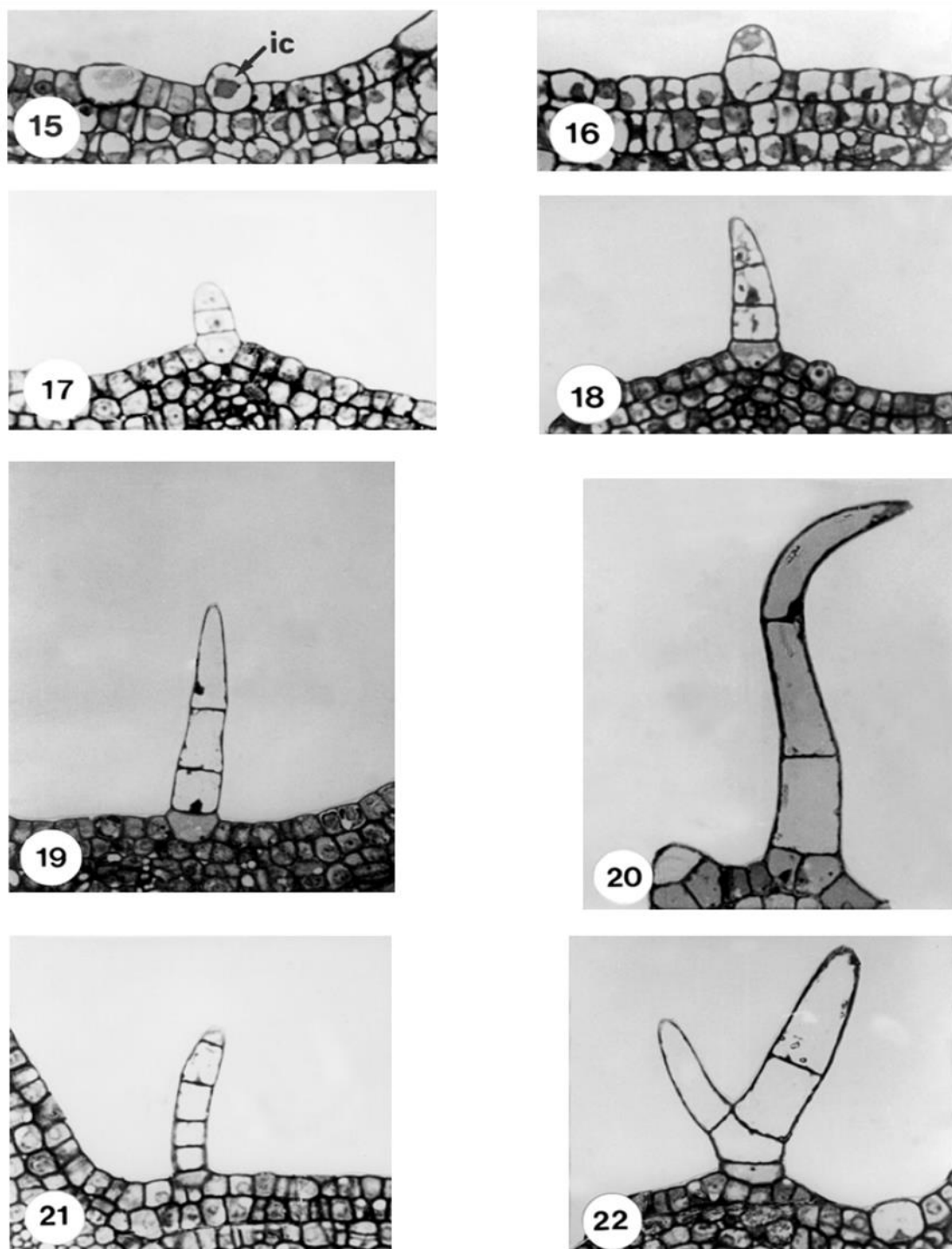
Marjoram

x330

- 1 Upper epidermis of the leaf in surface view with part of the underlying palisade (pal.).
- 2 Lower epidermis of the leaf in surface view showing diacytic stomata and a capitate gland.
- 3 Pollen grains.
- 4 A multicellular glandular trichome in surface view with surrounding cells of the upper epidermis (ep.) of the leaf.
- 5 Part of the lamina in sectional view showing a capitate gland in the upper epidermis (u.ep.).
- 6 Covering trichomes.
- 7 Upper epidermis of the leaf over a vein in surface view.
- 8 Inner epidermis of the corolla showing papillae.
- 9 Outer epidermis of the corolla in surface view.
- 10 Upper epidermis of the leaf in sectional view showing a capitate gland.
- 11 Part of the xylem of the stem showing a fibre (f.), xylem parenchyma, a bordered pitted vessel and an annularly thickened vessel.
- 12 Epidermis of the stem in surface view showing capitate glands and part of a covering trichome.
- 13 Multicellular glandular trichomes in side view.
- 14 Outer epidermis on the margin of a bract.
- 15 Outer epidermis of the calyx in surface view.



Figures 2.3–2.5 Cross sections of leaves from *Origanum vulgare* subsp. *birtum* (Figure 2.3), *Origanum* × *intercedens* (Figure 2.4) and *Origanum dictamnus* (Figure 2.5) to show corresponding leaf anatomy (×200).



Figures 2.15–2.22 Ontogeny of nonglandular hairs of *Origanum vulgare* ( $\times 450$ ). Figure 2.15 The initial cell of the hair (ic). Figure 2.16 The 2-celled stage (one periclinal division). Figure 2.17 The 3-celled stage (two periclinal divisions). Figure 2.18 A young hair composed of one basal cell and three piled vacuolated cells above it. The most distal cell is pointed.



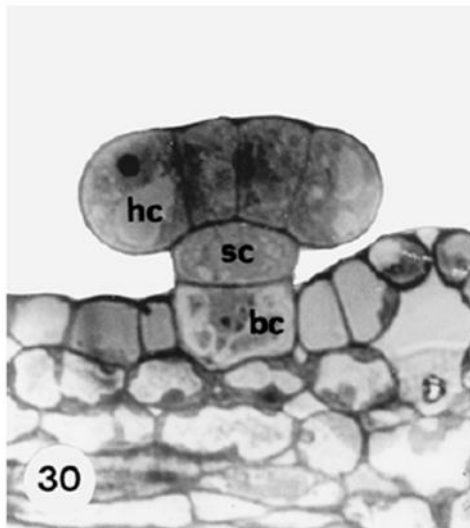


Figure 2.30 Longitudinal section of a peltate glandular hair after conclusion of divisions (subcuticular space not yet formed). The hair appears in the section composed of one basal cell (bc), one stalk cell (sc) and four head cells (hc) ( $\times 750$ ).

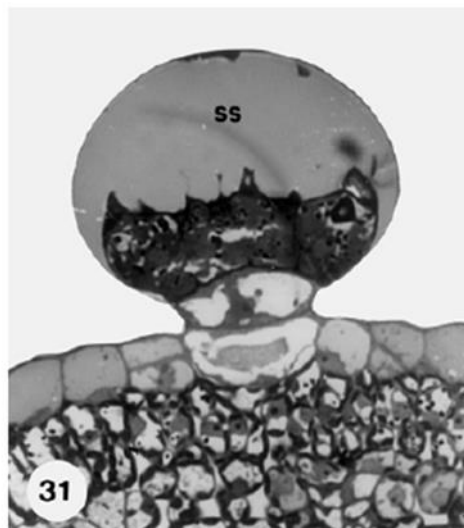
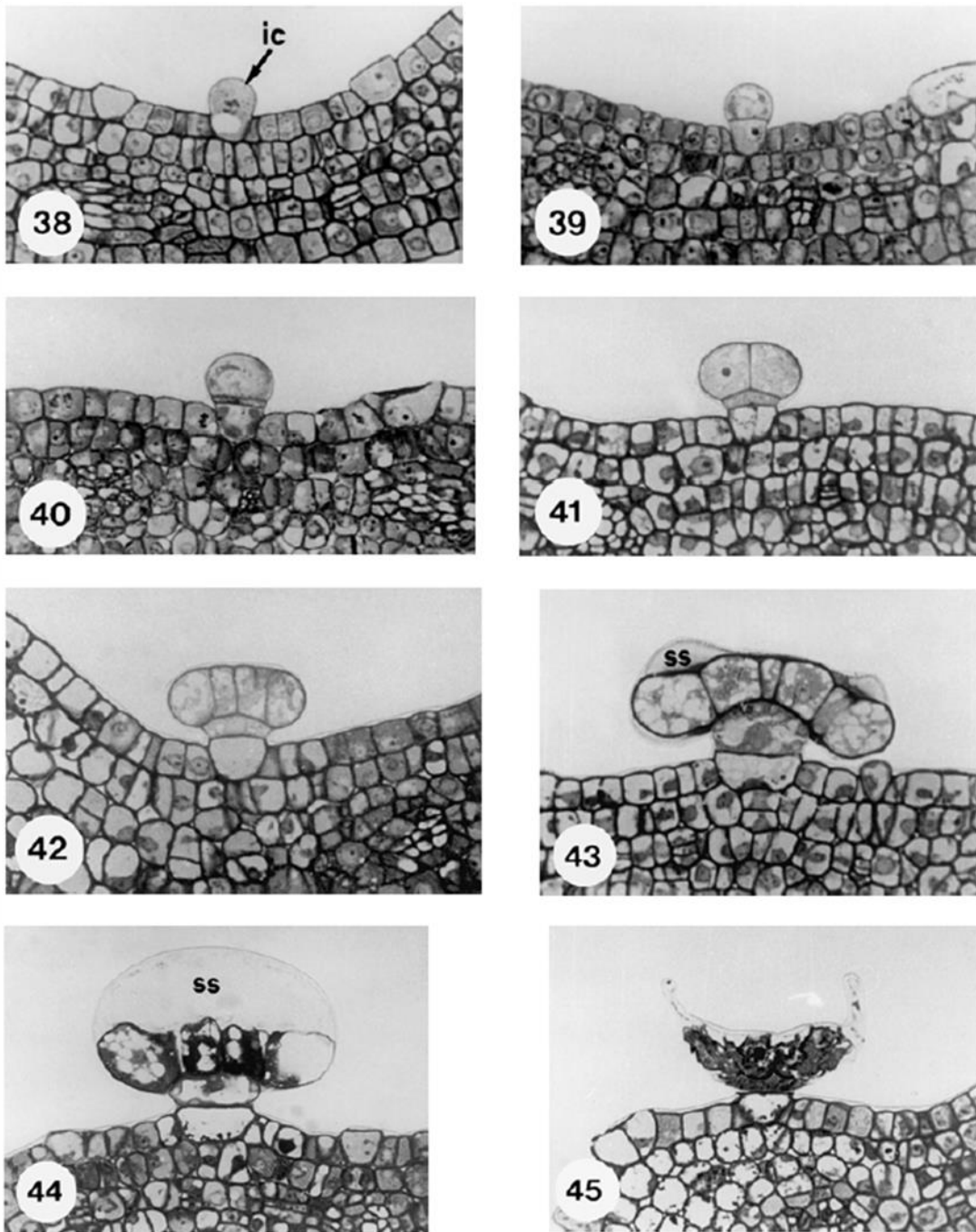


Figure 2.31 A fully-developed peltate glandular hair of *Origanum dictamnus*. The basal and stalk cells are highly vacuolated, whereas the head cells are plasma rich. The cuticle becomes greatly detached from the apical cell walls forming a large subcuticular space (ss) ( $\times 700$ ).

redivides asymmetrically and periclinally to give rise to a lower flattened cell (future stalk cell of the hair) and an upper rounded cell (Figure 2.40). The latter corresponds to the mother cell of the head and it undergoes a series of anticlinal divisions to ultimately form the head of the peltate hair (Figures 2.41, 2.42).

Integration of cell divisions in the head of the peltate hair is followed by the stage of essential oil secretion. The secreted material becomes released into a space formed at the tip of the hair by detachment of the cuticle from the apical walls of the head cells. This



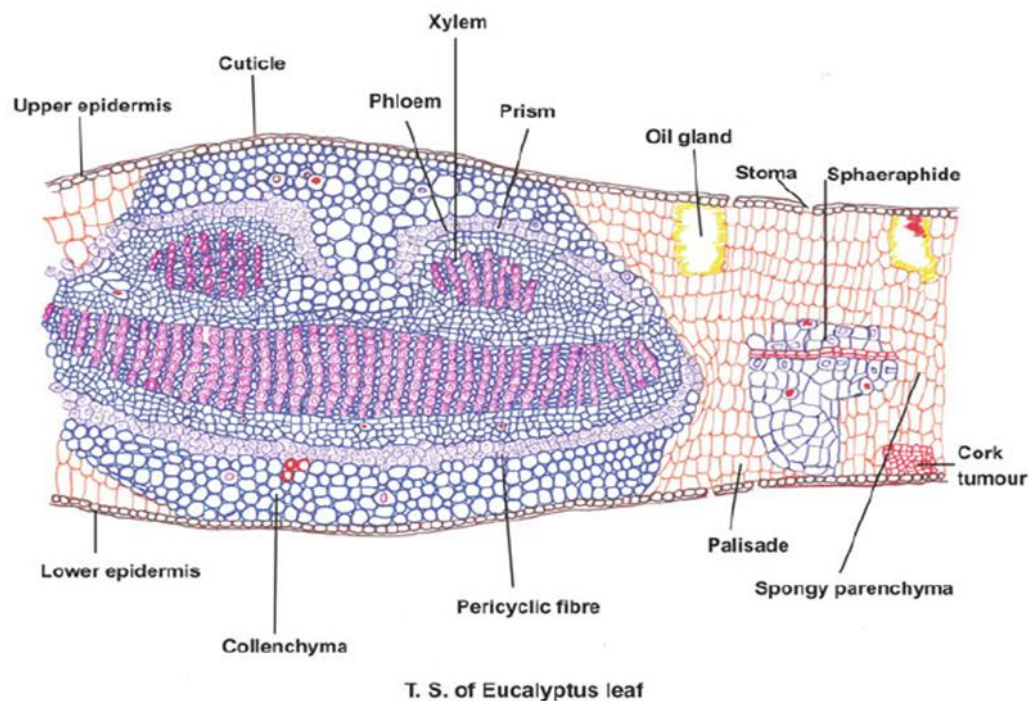
Figures 2.38–2.45 Ontogeny of peltate glandular hairs in *Origanum vulgare* (×500). *Figure 2.38* The initial cell of the peltate hair (ic). *Figure 2.39* First periclinal division of the initial cell to give the future basal cell and an apical dome-like cell. *Figure 2.40* Second periclinal division resulting in the basal cell, stalk cell and mother cell of the head. *Figure 2.41* First anticlinal divisions in the head region. *Figure 2.42* Integration of anticlinal divisions in the head region. *Figure 2.43* Slight detachment of the cuticle from the apical walls of the head cells to form a small subcuticular space (ss). *Figure 2.44* Advanced detachment of the cuticle creating a large subcuticular space (ss) in which the essential oil will be accumulated. *Figure 2.45* Disorganized head cells in a senescent peltate hair.



**ANNEXE 09 : support sur coupe histologique d'Eucalyptus extrait de "Indian journal of Natural Products and Resources" Page 92-93**

92

S. Gurav and N. Gurav

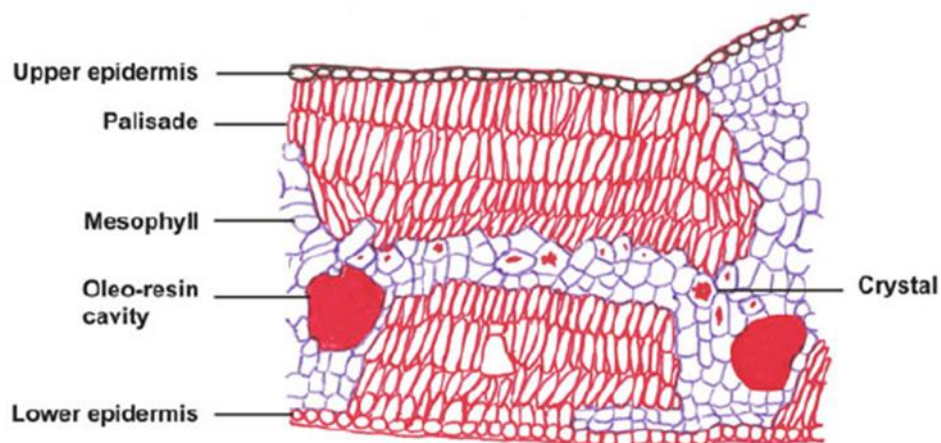


*Powder Character:*

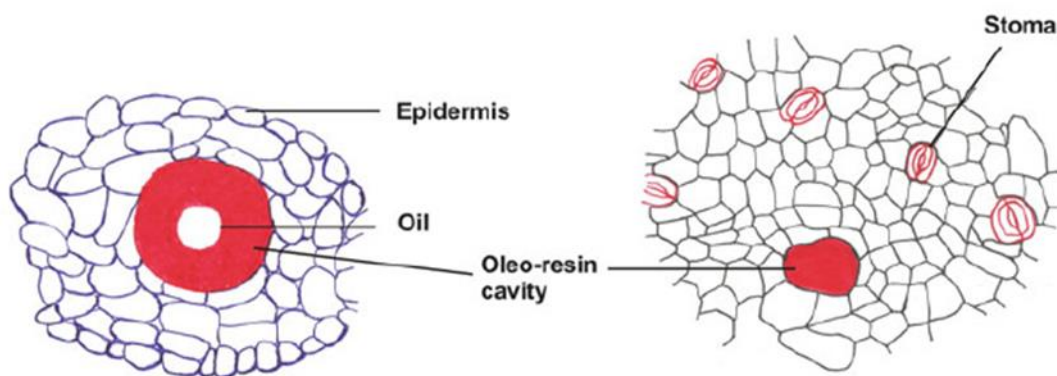
The powder of eucalyptus leaves is yellowish green to light brown in colour with aromatic, characteristic odour and slightly pungent taste which gives a cooling sensation in the oral cavity. The following characters are seen microscopically:

- a. Epidermis:  
The fragments of epidermis as well as entire cells can be observed. Cells appear as polygonal, parenchymatous and straight walled with thick cuticle. Stomata may appear but trichomes are absent.
- b. Stomata:  
Numerous anomocytic stomata are seen on both upper and lower epidermises. These are numerous, prominent, sunken and well developed.
- c. Calcium oxalate crystals:  
Rosettes and prismatic crystals of calcium oxalate are observed as scattered in the powder.
- d. Pericyclic fibres:  
These are lignified, isolated or in small groups and have tapering ends.
- e. Xylem vessels:  
Numerous fragments of spiral, annular or pitted vessels are seen.
- f. Cell contents:  
Subglobular oil glands, oil drops and brownish cell contents can be observed.



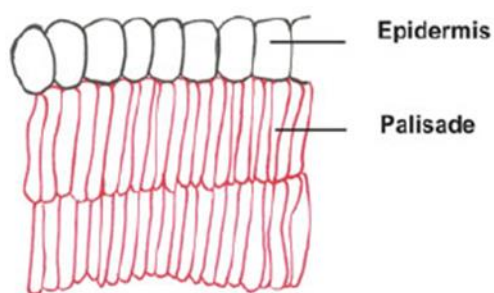


T. S. of lamina

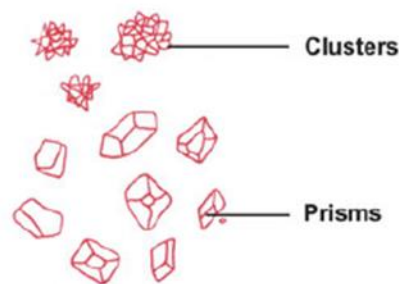


Portion of tissues from the petiole with oleo-resin cavity

Epidermis in surface view



T. S. of leaf fragment



Calcium oxalate crystals

## ANNEXE 10 : Support sur l'hydrodistillateur de Clevenger extrait de la « Pharmacopée Européenne éd 7.0 Tome 1 » page 265

PHARMACOPÉE EUROPÉENNE 7.0

2.8.12. Huiles essentielles dans les drogues végétales

de cinéole R et 2,10 g de crésol R fondu. Si la valeur  $t_2$  est inférieure à 27,4 °C, répétez le dosage après avoir ajouté 5,10 g du complexe.

La teneur en cinéole qui correspond à la température maximale observée  $t_2$  est indiquée dans le tableau 2.8.11-1. Si les 5,10 g du complexe ont été ajoutés, calculez la teneur en cinéole d'une prise d'essai exprimée en pourcentage  $m/m$  à l'aide de l'expression :

$$2(A - 50)$$

où A est la valeur indiquée dans le tableau 2.8.11-1.

La teneur en cinéole correspondant à la température maximale observée  $t_2$  est obtenue, si nécessaire, par interpolation.

Tableau 2.8.11-1

$t_2$ °C	pour cent $m/m$ en cinéole	$t_2$ °C	pour cent $m/m$ en cinéole	$t_2$ °C	pour cent $m/m$ en cinéole	$t_2$ °C	pour cent $m/m$ en cinéole
24	45,5	32	56,0	40	67,0	48	82,0
25	47,0	33	57,0	41	68,5	49	84,0
26	48,5	34	58,5	42	70,0	50	86,0
27	49,5	35	60,0	43	72,5	51	88,5
28	50,5	36	61,0	44	74,0	52	91,0
29	52,0	37	62,5	45	76,0	53	93,5
30	53,5	38	63,5	46	78,0	54	96,0
31	54,5	39	65,0	47	80,0	55	99,0

01/2008:20812

### 2.8.12. DÉTERMINATION DES HUILES ESSENTIELLES DANS LES DROGUES VÉGÉTALES

La détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales est effectuée par entraînement à la vapeur d'eau, dans un appareil spécial, dans les conditions précisées ci-après. Le distillat est recueilli dans le tube gradué, en présence de xylène pour fixer l'huile essentielle, tandis que la fraction aqueuse retourne automatiquement dans le ballon générateur de vapeur.

**Appareil.** L'appareil comprend :

- un ballon approprié à fond rond, à col court et portant un rodage d'un diamètre intérieur de 29 mm environ à l'extrémité la plus large ;
- un appareil de condensation (voir figure 2.8.12-1) s'adaptant exactement sur le ballon, comprenant diverses parties entièrement soudées en verre de faible dilatation thermique :
  - le bouchon (K') est percé et la tubulure (K) de 10 mm de diamètre intérieur à la partie la plus large du tube rodé, est munie d'un orifice correspondant de 1 mm de diamètre environ,
  - un renflement en forme de toupie (J) de 3 mL,
  - le tube gradué (JL) est divisé en 0,01 mL,

- le renflement (L) est en forme de boule et contient 2 mL environ,
- le robinet (M) à 3 voies,
- la jonction (B) est à un niveau supérieur de 20 mm à celui du sommet de la graduation ;

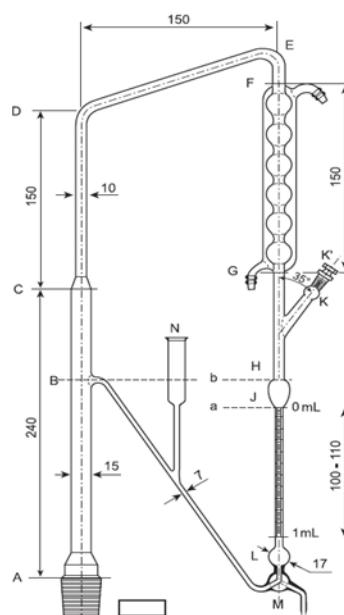


Figure 2.8.12-1. – Appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales

Dimensions en millimètres

- un dispositif de chauffage approprié permettant un réglage précis ;
- un support vertical avec un anneau horizontal recouvert d'une matière isolante.

**Mode opératoire.** Utilisez un appareil parfaitement nettoyé. Procédez au dosage suivant la nature de la drogue à examiner. Dans le ballon, introduisez le volume du liquide indiqué pour l'entraînement à la vapeur et quelques fragments de pierre poreuse. Adaptez au ballon l'appareil de condensation. Versez de l'eau R par le tube de remplissage (N) jusqu'à l'affleurement en (B). Enlevez le bouchon (K') et introduisez la quantité prescrite de xylène R avec une pipette, en appuyant la pointe au fond de la tubulure (K). Remplacez le bouchon (K') en vérifiant que les 2 orifices coïncident. Chauffez le liquide du ballon jusqu'à début d'ébullition et distillez à la vitesse de 2-3 mL/min, sauf indication contraire.

## ملخص

يقوم الطب الشعبي الممارس في الجزائر على العلاج والتداوي بالأعشاب المتوارث والمستخدم كذلك في علاج التهابات الجهاز التنفسي. وتظل معظم النباتات الطبية التقليدية غير معروفة على المستوى الكيميائي والقدرة الحيوية. انطلقت هذه الدراسة من غاية سامية وهي تقويم قدرة النباتات المستخدمة خصيصا في شمال شرق الجزائر في علاج التهابات الجهاز التنفسي. ولذلك، تم اعتماد مسعى منهجي مكون من خطوتين: العمل الميداني الموجه لإحصاء المعارف التقليدية حول النباتات، يليه عمل مخبري يهدف إلى تحديد النباتات، وتوصيف زيوتها الأساسية وتقييم أنشطتها الحيوية. وقد سمحت التحقيقات العرقية الصيدلانية التي أجريت على السكان والمعالجين بإنشاء قائمة من عشرين (20) نوعًا ينتمي إلى 11 فصيلة نباتية مستخدمة في مؤشر الجهاز التنفسي. وانطلاقًا من هذه القائمة برزت أربع نباتات عطرية ذُكرت مرارا وتكرارا وهي اللوزة العطرية، والزعر و الزعر البري والأوكالبتوس عريض الورق. خضعت مستخلصات زيوت هذه النباتات عن طريق التقطير وباستخدام جهاز من نوع كليفينجر Clevenger للتوصيف عن طريق استشراب غازي وقياس مطيافية الكتلة CPG-MS وتقييم قدرتها الحيوية. ومن الناحية الكيميائية، أظهرت الزيوت الأساسية المتحصل عليها عن طريق التقطير باستخدام جهاز كليفينجر، جانبا استشرابيا حقيقيا للزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها من نباتات شمال إفريقيا. من الناحية الصيدلانية، تم تقييم القدرات المسكنة للألام والمضادة للالتهاب على الفئران السويسرية البيضاء، باستخدام منهج تايلفليك TailFlick مع مقياس التسكين وأظهرت أربعة أنواع من الزيوت الأساسية التي تمت دراستها، تأثيرًا مُسكنًا ملحوظًا، وكان أهمها تأثير الزعر البري، باستثناء مستخلص الزيت الأساسي للوزة العطرية. أما فيما يخص بقية الزيوت الأساسية فقد قلت الاستجابة الالتهابية والتي تم تقييمها بواسطة مقياس pléthysmomètre واختبار ليفي Levy عن طريق قياس حجم ووزن الودمة، على التوالي. وبالموازاة مع الأنشطة المذكورة، أظهرت الزيوت الأساسية للزعر و الزعر البري تأثيرات كبيرة مضادة للبكتيريا ومضادة للأكسدة من خلال احتوائها وبوفرة على المكونات الفينولية، سيما الثيمول والكارفاكرول. وعلى الصعيد نفسه، أثبتت مستخلصات الزيوت الأساسية اثنتين من الفصيلة الشفوية Lamiaceae بشكل معتبر نمو كل من بكتيريا غرام (-) [E.coli ATCC SH ، الزائفة الزنجارية P.aeruginosa ATCC ، SH ، K.pneumoniae SH ، (+) [A.baumannii] وغرام (+) [عنفودية ذهبية S.aureus ATCC / SH ، مُكَوَّرَة عَفْدِيَّة Streptococcus.sp SH] ، باستثناء سلالة مستضيفة واحدة من الزائفة الزنجارية التي تم اختبارها. وظهر التأثير المضاد للفطريات للزيوت الأساسية على الخميرة المبيضة البيضاء (كانديدا أليكانس) C. albicans بالإضافة إلى الخصائص التي تم التطرق لها آنفا، تشير النتائج إلى أن جميع الزيوت الأساسية الأربعة تمتلك قدرة مثبطة للكولينستريز (AChE, BChE). كشفت دراسة السمية التي أجريت في المختبر على يرقات نبات الأرتيميا الملحية Artemia salina حسب منهج ماير Mayer، أن الزيوت الأساسية للأوكالبتوس عريض الورق و الزعر البري تسببت في موت 100% من اليرقات عند أقل جرعة مختبرة؛ بينما كانت قيم LC50 لكل من الزعر و اللوزة العطرية 1.65 و 0.05 ميكروغرام / مل على التوالي. إن نتائج الدراسة الآلية (المحوسبة) التي أجريت بالتوازي على القدرة المضادة للالتهاب لخمس أحاديات (الكارفاكرول، الثيمول ، ليمونين المتماكب D، البينين، و 1-8 سينيول) الموجودة في تركيبة الزيوت الأساسية للزعر و الزعر البري والأوكالبتوس عريض الورق تظهر مشاركتها المحتملة في التأثير المضاد للالتهاب الملاحظ في الزيوت الأساسية.

تؤكد هذه المعلومات المتعلقة بالأنشطة الحيوية "في الجسم الحي" و"في المختبر" صحة استخدام هذه الأنواع الأربعة في الطب التقليدي للجهاز التنفسي والمذكور في التحقيقات العرقية الصيدلانية. وفي ختام هذه الدراسة، يمكن اعتبار أن جميع النتائج التي توصلنا إليها تشكل معطيات أولية مثيرة للاهتمام، تتطلب دراسات معمقة من شأنها أن تدعم القدرة العلاجية لهذه النباتات من منظور التكفل بأمراض الجهاز التنفسي.

**الكلمات المفتاحية:** تحقيق عرقي صيدلي ؛ شمال شرق الجزائر؛ التداوي التقليدي بالأعشاب ؛ أمراض الجهاز التنفسي ؛ الزيوت الأساسية ؛ اللوزة العطرية *A.triphylla* ؛ الزعتر *T.capitatus* ؛ الزعتر البري *O.vulgare* ؛ الأوكالبتوس عريض الورق *E.globulus* ؛ النشاطات الحيوية.

**التخصص: العقاقير الطبية**

## **ABSTRACT**

The folk medicine practised in Algeria has an ancestral phytopharmacopoeia proposed, among others, in the treatment of respiratory infections. Most of the traditional medicinal plants are still unknown in terms of their chemical and biological potential.

This study was initiated with the ultimate aim of developing the potential of plants used particularly in the North-east of Algeria for the treatment of respiratory infections. To achieve this, a two-stage methodological approach was adopted: fieldwork to identify traditional knowledge about plants, followed by laboratory work to identify the plants, characterise their essential oils and evaluate their biological activities.

Ethnopharmacological surveys conducted among the populations and healers allowed to establish a list of twenty (20) species belonging to 11 botanical families used in respiratory indications. From this list, four (4) aromatic plants, frequently cited, *Aloysia triphylla* (AT), *Thymus capitatus* (TC), *Origanum vulgare* (OV), and *Eucalyptus globulus* (EG) are brought out. The EOs of these plants obtained by distillation using a Clevenger-type apparatus were characterised by GC-MS and evaluated for their biological potential.

On the chemical side, the essential oils obtained by distillation using Clevenger showed a chromatographic profile typical of essential oils obtained from North African plants.

On the pharmacological section, the analgesic and anti-inflammatory potentialities were evaluated on Swiss Albino mice. Using the TailFlick method coupled with the analgimeter, the four EOs studied showed a remarkable analgesic effect, the most important of which was that of OV. With the exception of AT EO, the other EOs decreased the inflammatory response, as assessed by the plethysmometer and Levy test by measures of oedema volume and weight, respectively.

In parallel to the mentioned activities, the EOs of TC and OV showed significant antibacterial and antioxidant effects by their richness in phenolic components, notably thymol and carvacrol. Similarly, the EOs of two Lamiaceae significantly inhibited the growth of both Gram (-) [*E.coli* ATCC/SH, *P.aeruginosa* ATCC, *K.pneumoniae* SH, *A.baumannii* SH] and Gram (+) [*S.aureus* ATCC/SH, *Streptococcus sp.*SH] bacteria, with the exception of one hospital strain of *P.aeruginosa* tested. The antifungal effect of EOs was also demonstrated on a yeast, *C.albicans*.

In addition to the properties previously explored, the results show that all four EOs possess cholinesterase inhibitory potential (AChE, BChE).

An in vitro toxicological study on *Artemia salina* larvae using the Mayer method revealed that EG and OV EOs induced 100% nauplii mortality at the lowest dose tested. While the LC50 values of *T.capitatus* and *A.triphylla* were 1.65 and 0.05 µg/mL, respectively.

The results of the in silico studies parallelly on the anti-inflammatory potential of five monoterpenes (carvacrol, thymol, D-limonene,  $\alpha$  pinene, and 1-8 cineole) present in the composition of TC, OV, and EG EOs demonstrate their probable implications in the observed anti-inflammatory effects of the EOs.

This information related to the biological activities "*in vivo*" and "*in vitro*", validates the use of these four species in traditional respiratory medicine reported in the ethnopharmacological surveys.

At the outcome of this study, it can be estimated that all the results obtained constitute interesting preliminary data requiring in-depth studies to support the therapeutic potential of these plants in the perspective of the management of respiratory diseases.

**KEYWORDS** : *Ethnopharmacological survey ; North-East of Algeria ; traditional phytotherapy ; respiratory infectiology ; essential oils ; Aloysia triphylla. ; Thymus capitatus. ; Origanum vulgare. ; Eucalyptus globulus. ; biological activities.*

**DISCIPLINE** : *Pharmacognosy*

## RESUME

La médecine populaire pratiquée en Algérie dispose d'une phytopharmacopée ancestrale proposée entre autres, dans le traitement des infections respiratoires. La plupart des plantes médicinales traditionnelles restent méconnues sur le plan chimique et potentiel biologique.

Cette étude a été amorcée avec un but ultime, de valoriser le potentiel en plantes spécifiquement utilisées dans le Nord-est Algérien dans le traitement des infections de l'appareil respiratoire. Pour cela, une démarche méthodologique en deux étapes a été adoptée : un travail de terrain destiné à recenser les savoirs traditionnels sur les plantes, suivi d'un travail en laboratoire visant à identifier les plantes, caractériser leurs huiles essentielles et évaluer leurs activités biologiques.

Les enquêtes ethno-pharmacologiques menées auprès des populations et des guérisseurs ont permis d'établir une liste de vingt (20) espèces appartenant à 11 familles botaniques utilisées dans l'indication respiratoire. De cette liste s'est dégagée quatre (4) plantes aromatiques, citées fréquemment, *Aloysia triphylla* (AT), *Thymus capitatus* (TC), *Origanum vulgare* (OV), et *Eucalyptus globulus* (EG). Les HEs de ces plantes obtenues par distillation à l'aide d'un appareil type Clevenger ont fait l'objet d'une caractérisation par CPG-MS et d'une évaluation de leur potentiel biologique.

Sur le volet chimique, les huiles essentielles obtenues par distillation à l'aide de Clevenger ont montré un profil chromatographique typique des huiles essentielles obtenues de plantes Nord-Africaines.

Sur le volet pharmacologique, les potentialités analgésiques et anti-inflammatoires ont été évaluées sur des souris Albinos Swiss. Utilisant la méthode *Tail Flick* couplé à l'analgésimètre, les quatre HEs étudiées ont montré un effet analgésique remarquable, dont le plus important était celui de l'OV. A l'exception de l'HE d'AT, les autres HEs ont diminué la réponse inflammatoire, évaluée par le pléthysmomètre et le test de *Levy* par les mesures de volume et du poids d'œdème, respectivement.

En parallèle aux activités citées, les HEs de TC et d'OV ont exhibé d'importants effets antibactériens et antioxydants, de par leur richesse en composants phénoliques, notamment le thymol et le carvacrol. De même, les HEs de deux Lamiacées ont inhibé significativement la croissance à la fois des bactéries à Gram (-) [*E.coli* ATCC/SH, *P.aeruginosa* ATCC, *K.pneumoniae* SH, *A.baumannii* SH] et Gram (+) [*S.aureus* ATCC/SH, *Streptococcus sp.* SH], à l'exception d'une souche hospitalière de *P.aeruginosa* testée. L'effet antifongique des HEs s'est manifesté aussi sur une levure, le *C.albicans*.

En outre des propriétés précédemment explorées, les résultats indiquent que les quatre HEs étudiées possèdent un potentiel inhibiteur de cholinestérase (AChE, BChE).

Une étude toxicologique pratiquée *in vitro* sur les larves d'*Artemia salina* selon la méthode de *Mayer*, a révélé que les HEs d'EG et d'OV ont induit 100% de mortalité des nauplii à la dose la plus faible testée. Alors que les valeurs des CL50 de *T.capitatus* et d'*A.triphylla* étaient de 1,65 et 0,05 µg/mL, respectivement.

Les résultats des études « *in silico* » menées en parallèle sur le potentiel antiinflammatoire de cinq monoterpènes (carvacrol, thymol, D-limonène, α pinène, et 1-8 cinéole) présents dans la composition des HEs de TC, d'OV et d'EG démontrent leurs probables implications dans les effets antiinflammatoires observés des HEs.

Ces informations relatives aux activités biologiques « *in vivo* » et « *in vitro* », valident l'utilisation de ces quatre espèces en médecine traditionnelle respiratoire reporté dans les enquêtes ethno pharmacologiques. A l'issue de cette étude, on peut estimer que l'ensemble des résultats obtenus constituent des données préliminaires intéressantes nécessitant des études approfondies pour étayer le potentiel thérapeutique de ces plantes dans la perspective de prise en charge des maladies respiratoires.

**MOTS CLES :** *Enquête ethno-pharmacologique ; Nord-Est Algérien ; savoirs traditionnels ; infections respiratoire ; huiles essentielles ; Aloysia triphylla. ; Thymus capitatus. ; Origanum vulgare. ; Eucalyptus globulus. ; activités biologiques.*

**DISCIPLINE : Pharmacognosie**