

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de

La Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE CONSTANTINE III -Salah BOUBNIDER-

**FACULTE DE MEDECINE DR. BELKACEM BENSMAIL**

Département de Pharmacie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de

Docteur en Pharmacie

**Thème**

**Le *Thymus capitatus* d'Algérie : Etude botanique ; Screening phytochimique et Exploration des potentialités Biologiques**

Soutenu publiquement le :14 /07/2024

**Rédigé et présenté par**

YOUNES Yasmine

TADJINE Balkis

BOUTERAA Izdihar

KEBIACHE Kawther

**Encadré par**

**Pr. DALIA Farid**

*Maitre de conférences A en pharmacognosie*

**Jugé par**

**Présidente : Dr. BOUAOUA Fatima. Z**

*Maitre-assistante en pharmacologie*

**Examineur : Dr. GUEROUI MEHDI**

*Maitre-assistant en chimie thérapeutique*

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2023 /2024**

# Table des Matières

Remerciements .....	i
Dédicaces.....	ii
Abréviations et symboles .....	vi
Liste des figures.....	ix
Liste des tableaux.....	xii
Introduction .....	02

## PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I : *APERÇU GENERAL : PLANTES MÉDICINALES, PHYTOTHÉRAPIE ET AROMMATHERAPIE*

<b>I.1. Plantes médicinales .....</b>	<b>06</b>
<i>I.1.1. Définitions .....</i>	<i>06</i>
I.1.1.1. Plantes médicinales .....	06
I.1.1.2. Plantes médicinales aromatiques .....	06
<i>I.1.2. Origine .....</i>	<i>07</i>
I.1.2.1. Plantes de cueillette .....	07
I.1.2.2. Plantes de culture .....	07
<i>I.1.3. Méthodes de recherche des plantes médicinales et substances naturelles actives .....</i>	<i>07</i>
I.1.3.1. À partir des végétaux .....	07
<i>I.1.3.1.1. Méthodes empirique .....</i>	<i>07</i>
<i>I.1.3.1.2. Recherche systématique ou méthode de criblage (screening) .....</i>	<i>08</i>
<i>I.1.3.1.3. Méthode inductive .....</i>	<i>08</i>
<i>I.1.3.1.4. Le hasard .....</i>	<i>08</i>
I.1.3.2. À partir d'autres sources .....	08
<b>I.2. Drogues végétales .....</b>	<b>09</b>

<i>I.2.1. Définition</i> .....	09
<i>I.2.2. La Récolte</i> .....	09
<i>I.2.3. Conservation et stockage</i> .....	10
I.2.3.1. Conservation .....	10
I.2.3.2. Stockage .....	11
<b>I.3. Contrôles des plantes médicinales et drogues végétales</b> .....	<b>12</b>
<i>I.3.1. Contrôle botanique</i> .....	12
<i>I.3.2. Contrôle physico-chimique</i> .....	12
<i>I.3.3. Contrôle biologique</i> .....	13
<i>I.3.4. Normalisation et standardisation des plantes médicinales et drogues végétales</i> .....	13
<b>I.4. Terminologie</b> .....	<b>13</b>
<i>I.4.1. Préparations à base de drogues végétales</i> .....	13
<i>I.4.2. Le Totum</i> .....	14
<i>I.4.3. Matières premières</i> .....	14
<i>I.4.4. Principes actifs</i> .....	14
<i>I.4.5. Constituants à effets thérapeutiques</i> .....	14
<i>I.4.6. Médicaments à base de plantes</i> .....	15
<b>I.5. Phytothérapie et aromathérapie</b> .....	<b>16</b>
<i>I.5.1. Définitions</i> .....	16
I.5.1.1. Phytothérapie .....	16
I.5.1.2. Aromathérapie .....	16
<i>I.5.2. Ethnobotanique et Ethnopharmacologie</i> .....	17
I.5.2.1. Ethnobotanique .....	17
I.5.2.2. Ethnopharmacologie .....	17

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

<b>II.1. Aperçu sur les molécules naturelles bioactives</b> .....	<b>20</b>
<i>II.1.1. Composés phénoliques</i> .....	20
II.1.1.2. Tanins .....	20
II.1.1.3. Quinones .....	20
<i>II.1.2. Composés azotés (les alcaloïdes)</i> .....	21

II.1.3. <i>Steroïdes et triterpènes</i> .....	21
<b>II.2. Les huiles essentielles</b> .....	<b>21</b>
II.2.1. <i>Définitions des huiles essentielles</i> .....	21
II.2.2. <i>Répartition botanique et localisation des huiles essentielles</i> .....	22
II.2.3. <i>Composition chimiques et origine biosynthétique des huiles essentielle</i> .....	23
II.2.3.1. <i>Généralités structurales</i> .....	23
II.2.3.2. <i>Facteurs de variabilités des huiles essentielles</i> .....	27
II.2.3.3. <i>Biosynthèse</i> .....	28
II.2.4. <i>Notions de chémotype</i> .....	30
II.2.5. <i>Caractères physiques</i> .....	30
II.2.6. <i>Procédés d'extraction</i> .....	30
II.2.6.1. <i>Hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau</i> .....	31
II.2.6.2. <i>Extraction par expression</i> .....	32
II.2.7. <i>Analyses et contrôles des huiles essentielles</i> .....	32
II.2.7.1. <i>Paramètres physicochimiques</i> .....	32
II.2.7.2. <i>Détermination de la composition des huiles essentielles par CPG/SM</i> .....	33
II.2.8. <i>Fonctions physiologiques et propriétés pharmacologiques des huiles essentielles</i> ..	34
II.2.8.1. <i>Rôle dans la plante</i> .....	34
II.2.8.2. <i>Propriétés antimicrobiennes</i> .....	34
II.2.8.2.1. <i>Mécanisme d'action</i> .....	35
II.2.8.2.2. <i>Activités antibactériennes</i> .....	37
II.2.8.2.3. <i>Activités antifongiques</i> .....	37
II.2.8.2.4. <i>Activités anti-cancéreuses</i> .....	38
II.2.8.2.5. <i>Potentiels anti-inflammatoires</i> .....	38
II.2.8.2.6. <i>Propriétés anti-oxydantes</i> .....	39
II.2.9. <i>Toxicité des huiles essentielles</i> .....	44
II.2.10. <i>Conservation des huiles essentielles</i> .....	44
II.2.11. <i>Emplois pharmaceutiques et extra-pharmaceutiques des huiles essentielles</i> .....	45

## **CHAPITRE III : PRESENTATION MONOGRAPHIQUE DE L'ESPECE THYMUS CAPITATUS**

<b>III.1. La famille des lamiaceae</b> .....	<b>49</b>
--	-----------

<i>III.1.1. Présentation</i> .....	49
<i>III.1.2. Caractères botaniques</i> .....	49
III.1.2.1. Appareil végétatif .....	49
III.1.2.2. Appareil reproducteur .....	50
III.1.2.3. Chimie de la famille .....	50
<b>III.2. Le genre <i>Thymus</i></b> .....	<b>51</b>
<i>III.2.1. L'espèce « <i>Thymus capitatus</i> » Hoffmanns et Link</i> .....	51
III.2.1.1. Position systématique/taxonomie.....	51
III.2.1.2. Description botanique .....	52
III.2.1.2.1. Appareil végétatif .....	52
III.2.1.2.2. Appareil reproducteur .....	53
III.2.1.3. Répartition géographique et origine .....	54
III.2.1.4. La partie utilisée .....	55
III.2.1.4.1. Nature de la drogue .....	55
III.2.1.4.2. Production de la drogue .....	55
III.2.1.4.3. Récolte et conservation .....	55
III.2.1.4.4. Caractères botanique de la drogue .....	56
III.2.1.4.5. Composition chimique .....	58
III.2.1.4.6. Propriétés pharmacologiques.....	59
III.2.1.4.7. Indications thérapeutiques et formes d'emplois .....	60
III.2.1.4.8. Interactions, effets indésiables et toxicité .....	61

## DEUXIÈME PARTIE : PARTIE EXPÉRIMENTALE

<b>OBJECTIFS DU TRAVAIL PRATIQUE</b> .....	<b>64</b>
<b>PLAN DE TRAVAIL PRATIQUE</b> .....	<b>65</b>

### I. MATÉRIELS ET MÉTHODES

<b>I.1. Matériel végétal</b> .....	<b>66</b>
<b>I.2. Essais botaniques</b> .....	<b>67</b>

I.2.1. Examen macroscopique .....	68
I.2.1.1. Analyse organoleptique .....	68
I.2.1.2. Analyse morphologique .....	68
I.2.2. Examen microscopique .....	68
I.2.2.1. Analyse de la coupe histologique (technique de double coloration) .....	68
I.2.2.2. Analyse de la poudre .....	71
<b>I.3. Essais physico-chimiques .....</b>	<b>72</b>
I.3.1. Extraction de l'huile essentielle et calcul du rendement .....	72
I.3.2. Analyse chromatographique par CPG/SM .....	76
<b>I.4. Essais biologiques .....</b>	<b>78</b>
I.4.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	78
I.4.2. Evaluation de l'activité antioxydante .....	83
I.4.2.1. Activité anti radicalaire au DPPH .....	85
I.4.2.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	86
I.4.2.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP) .....	87
I.4.2.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> - phenanthroline .....	88
I.4.3. Evaluation de l'activité inhibitrice d'enzymes .....	89
I.4.3.1. Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) .....	91
I.4.3.2. Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE) .....	92
I.4.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	92
I.4.5. Appréciation de la toxicité .....	94

## II. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

<b>II.1. Essais botaniques .....</b>	<b>98</b>
II.1.1. Examen macroscopique .....	98
II.1.1.1. Analyse organoleptique .....	98
II.1.1.2. Analyse morphologique .....	98
II.1.2. Examen microscopique .....	99
II.1.2.1. Analyse de la coupe transversale de feuille .....	99
II.1.2.2. Analyse de la poudre de feuille .....	101
<b>II.2. Essais physico-chimiques .....</b>	<b>105</b>

<i>II.2.1. Extraction de l'huile essentielle et calcul du rendement</i> .....	105
<i>II.2.2. Analyse chromatographique par CPG/SM</i> .....	106
<b>II.3. Essais biologiques</b> .....	<b>111</b>
<i>II.3.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne</i> .....	111
<i>II.3.2. Evaluation de l'activité antioxydante</i> .....	119
II.3.2.1. Activité anti radicalaire au DPPH .....	119
II.3.2.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> .....	120
II.3.2.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP) .....	121
II.3.2.4. Activité de réduction par la formation du complexe Fe <sup>+2</sup> - phenanthroline ·	123
<i>II.3.3. Evaluation de l'activité inhibitrice d'enzymes</i> .....	126
II.3.3.1. Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) .....	126
II.3.3.2. Activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase (BChE) .....	127
<i>II.3.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire</i> .....	129
<i>II.3.5. Evaluatio de la toxicité</i> .....	131
<b>Conclusion générale</b> .....	<b>134</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>137</b>

## **Annexes**

**Résumé / Abstract / ملخص**

## Résumé

La médecine populaire Algérienne utilise une phytopharmacopée ancestrale pour traiter diverses pathologies, bien que plusieurs plantes médicinales de la médecine traditionnelle restent méconnues sur le plan chimique et biologique.

Notre étude a été lancée dans le but de valoriser le potentiel de l'espèce *Thymus capitatus* (TC) particulièrement utilisé en Algérie pour soulager plusieurs maladies en médecine populaire. Elle est basée sur une méthodologie qui comprend le contrôle botanique au laboratoire assurant l'identification précise de ce taxon ; la caractérisation physico-chimique de son extrait d'huile essentielle (HE) et l'évaluation de ses potentialités biologiques.

Sur le volet botanique, des analyses macroscopique et microscopique, ont été réalisées afin de confirmer l'identité et vérifier la pureté de l'espèce étudiée.

Sur le volet physico-chimique, l'obtention de l'essence de TC a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type *Clevenger*. L'analyse CPG/SM de cet extrait a révélé la présence de 47 constituants représentant 89,46 % de l'huile ; les composants dominants étaient le Thymol (54,08 %), l'O-cymène (7,45 %) et le Linalool (6,85 %).

Pour la section biologique, et à propos l'activité anti microbienne, on a constaté que L'HE inhibe significativement la croissance des souches de référence (ATCC), en l'occurrence les bactéries Gram + (*S.aureus* ; *Streptocoque*) ; contrairement à la souche hospitalière *P. aeruginosa* (Gram -) qui s'est avérée la plus résistante parmi les bactéries testées ; l'effet antifongique de l'HE s'est manifesté aussi sur la levure *C. albicans*. Cependant le pouvoir antioxydant apprécié selon quatre approches (DPPH, ABTS, FRAP et Phen), montre que l'extrait d'HE présente une forte activité antioxydante avec une  $CI_{50} = 9,64 \mu\text{g/ml}$  et  $40,12 \mu\text{g/ml}$  pour les tests ABTS et Phen respectivement, et cela peut être justifié par sa richesse en composés phénolique (Thymol) et hydrocarbures ( $\gamma$ -terpinènes).

L'activité inhibitrice d'enzymes a été évaluée selon deux essais (ACHE et BCHE) ; et les résultats obtenus montrent que l'extrait de TC a une faible activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase avec une  $CI_{50} = 152,14 \mu\text{g/ml}$  par rapport au galanthamine, alors qu'il ne présente aucune activité inhibitrice contre la butyrylcholinestérase, cela est justifié par la faible teneur en carvacrol.

L'étude de l'effet anti-inflammatoire évalué par une méthode *in vitro* portant sur la dénaturation du BSA (*sérum albumine bovine*), montre une nette absence d'activité anti-inflammatoire d'après les résultats d'analyse statistiques, et cela peut être justifié par plusieurs facteurs liés surtout aux démarches opératoires.

En fin ; et à l'issue de notre travail expérimental ; une étude toxicologique a été appréciée, utilisant les vers de farine *Tenebrio molitor*. ; et les données obtenues n'ont signalées aucun effet néfaste lié à l'HE de TC.

**Mots clés :** *Thymus capitatus* ; Huile essentielle ; CPG/SM ; Activités biologiques.



## Abstract

Algerian folk medicine uses an ancestral phytopharmacopoeia to treat various diseases, although many medicinal plants of traditional medicine remain unknown chemically and biologically.

Our study was initiated to highlight the potential of the species *Thymus capitatus* (TC), which is particularly used in Algeria to alleviate several diseases in folk medicine. It is based on a methodology that includes botanical control in the laboratory to ensure the precise identification of this taxon ; the physicochemical characterization of its essential oil extract (EO), and the evaluation of its biological potentials.

On the botanical aspect, macroscopic and microscopic analyses were carried out to confirm the identity and verify the purity of the studied species.

On the physicochemical aspect, the essential oil of TC was obtained by hydrodistillation using a *Clevenger*-type apparatus. GC/MS analysis of this extract revealed the presence of 47 constituents representing 89.46% of the oil; the dominant components were Thymol (54.08%), O-cymene (7.45%), and Linalool (6.85%).

For the biological section, regarding antimicrobial activity, it was observed that the EO significantly inhibits the growth of reference strains (ATCC), specifically Gram + bacteria (*S. aureus* ; *Streptococcus*) ; in contrast, the hospital strain *P. aeruginosa* (Gram -) was found to be the most resistant among the tested bacteria ; the antifungal effect of the EO was also observed on the yeast *C. albicans*. However, the antioxidant capacity, assessed using four approaches (DPPH, ABTS, FRAP, and Phen), shows that the EO extract exhibits strong antioxidant activity with  $CI_{50}$  values of 9.64  $\mu\text{g/ml}$  and 40.12  $\mu\text{g/ml}$  for the ABTS and Phen tests respectively. This can be attributed to its richness in phenolic compounds (Thymol) and hydrocarbons ( $\gamma$ -terpinenes).

The inhibitory activity of enzymes was evaluated using two assays (ACHE and BCHE); and the results obtained indicate that the extract of TC has a low inhibitory activity against acetylcholinesterase with an  $CI_{50} = 152.14 \mu\text{g/ml}$  compared to galanthamine, however it does not show any inhibitory activity against butyrylcholinesterase, which can be attributed to its low carvacrol content.

The study of the anti-inflammatory effect evaluated using an *in vitro* method involving the denaturation of BSA (*bovine serum albumin*), demonstrates a clear absence of anti-inflammatory activity according to the results of statistical analysis, this could be justified by several factor primarily related to procedural approaches.

Finally ; at the end of our experimental work ; a toxicological study was conducted using mealworms *Tenebrio molitor*, and the data obtained did not indicate any harmful effects associated with the EO of TC.

**Keywords:** *Thymus capitatus*; Essential oil; GC/MS; Biological activities.

## ملخص

يستخدم الطب الشعبي الجزائري علاجات عشبية تقليدية قديمة لعلاج مختلف الأمراض، على الرغم من أن العديد من النباتات الطبية في الطب التقليدي تظل غير معروفة من الناحية الكيميائية والبيولوجية.

تم إطلاق دراستنا بهدف تعزيز القدرات الكامنة لنوع *Thymus capitatus* (TC) المستخدم بشكل خاص في الجزائر لتخفيف عدة أمراض في الطب الشعبي. تعتمد هذه الدراسة على منهجية تشمل معاينة النبات في المختبر لضمان التعرف الدقيق على هذا النوع؛ وتوصيف الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمستخلص زيتة الأساسي (زأ) وتقييم إمكاناته البيولوجية.

على الجانب النباتي، تم إجراء تحليلات ماكروسكوبية وميكروسكوبية، لتأكيد الهوية والتحقق من نقاء النوع المدروس.

على الجانب الفيزيوكيميائي، تم الحصول على زيت TC بواسطة التقطير البخار باستخدام جهاز من نوع *Clevenger*. أظهر تحليل CPG/SM لهذا المستخلص وجود 47 مكوناً يمثلون 89.46% من الزيت؛ المكونات الرئيسية هي Thymol (54.08%)، O-cymene (7.45%) و Linalool (6.85%).

بالنسبة للقسم البيولوجي، وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات، لاحظنا أن الزأ يثبط بشكل كبير نمو سلالات المرجع (ATCC)، على وجه التحديد البكتيريا Gram + (*S.aureus* ; *Streptocoque*)؛ على عكس سلالة المستشفى *P. aeruginosa* (Gram -) التي تبين أنها الأكثر مقاومة بين البكتيريا التي تم اختبارها؛ وقد ظهر تأثير الزأ المضاد للفطريات أيضاً على الخميرة *C. albicans*. تم تقييم القدرة المضادة للأوكسدة وفقاً لأربعة طرق (Phen و FRAP، ABTS، DPPH)، تظهر أن مستخلص الزأ يتمتع بنشاط مضاد للأوكسدة قوي بقيمة  $CI_{50} = 9,64$  ميكروغرام/مل و  $40,12$  ميكروغرام/مل لاختبارات ABTS و Phen على التوالي، ويمكن تفسير ذلك بغناه بالمركبات الفينولية (Thymol) والهيدروكربونات ( $\gamma$ -terpinènes).

تم تقييم نشاط تثبيط الإنزيمات وفقاً لاختبارين (ACHE) و (BCHE)؛ وأظهرت النتائج المحصلة أن مستخلص TC لديه نشاط تثبيطي ضعيف ضد أسيتيل كولينستيراز مع قيمة  $CI_{50} = 152,14$  ميكروغرام/مل مقارنةً بالجالانثامين، بينما لا يظهر أي نشاط تثبيطي ضد بوتيريل كولينستيراز، ويبرر ذلك بالتركيز المنخفض للكافاكرول.

دراسة تأثير المضادات الالتهابية تقم بواسطة طريقة في المختبر و تتعلق بتفكك BSA (الألبومين المصلي للبقرة)، أظهرت غياباً واضحاً للنشاط المضاد للالتهاب وفقاً لنتائج التحليل الإحصائي، ويمكن تبرير ذلك بعوامل عدة تتعلق بشكل أساسي بالخطوات التجريبية.

في نهاية عملنا التجريبي؛ تم إجراء دراسة سمية، باستخدام ديدان الدقيق *Tenebrio molitor*، وأظهرت البيانات المحصلة عدم وجود أي تأثير ضار للزأ المرتبط بـ TC.

**الكلمات المفتاحية:** *Thymus capitatus*؛ زيت عطري؛ CPG/SM؛ الانشطة الحيوية.