

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. MOULAY TAHAR-Saida-

Faculté des sciences Département de Biologie
Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie
et Valorisation Biologiques des Plantes



Mémoire pour l'obtention du diplôme:

Master en Biologie

Spécialité : Biochimie et Physiologie Cellulaire

Thème

**Contribution à l'étude de la cytotoxicité de
quelques huiles essentielles sur les globules
rouges.**

Présenté Par : M_r DELLAOUI Abdelhakim

M_r SAHNOUNE Mostefa

Soutenu publiquement le 27/06/2016

Devant le jury :

Président	M _r BOUDRAA Kamel Eddine	MCA	U. de Saida
Examineur	M ^{me} FARES Soria	MAA	U. de Saida
Encadreur	M _r HALLA Noureddine	MAA	U. de Saida

Année Universitaire : 2015-2016

Remerciements

Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage et la patience qu'il nous a donnés pour mener ce modeste travail à terme.

الحمد والشكر لله العلي القدير

*Nous exprimons notre plus vifs et sincères remerciements à Mr **HALLA Noureddine**, maitre-assistant classe A à la Faculté des Sciences de l'Université Dr. Moulay Tahar Saïda qui nous avons honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Nous avons été satisfaits de votre qualité exceptionnelle de bonne enseignante, merci de nous avoir guidés avec patience et d'avoir consacré autant d'heures*

*Nous remercions M, **BOUDRAA Kamel Eddine**. Merci pour avoir accepté de présider le jury de ce travail et pour votre contribution à l'amélioration de ce document. Trouvez ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.*

*Pour l'examination de ce manuscrit ; nous remercions **M^{me} FARES Soria** qui a accepté de lire, critiquer, instruire et juger ce mémoire. Nous sommes très heureux de bénéficier de vos recommandations et nous tenons à vous exprimer nos sincères reconnaissances pour cette marque d'intérêt. Sincèrement nous exprimons notre respect et notre gratitude.*

*Un grand merci nous s'adressons toutes les enseignants de la première année jusqu'à cette année
Mr Ziani, Mr Loth, Mr Beroukach.*

*Nous témoignons toute notre gratitude pour nos promotions de biologie et à tous les membres du
Laboratoire de biologie*

Nous exprimons aussi notre reconnaissance aux membres du Laboratoire de chimie



Dédicace

A Mes Très Chers Parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi.

Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.

A ma très chère sœur Hafsa

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité

A ma belle sœur Hafida

A mes très cher frères Mohamed Amine, Ishak et Sohaib.

A tous mes meilleures amies : *Cheikh, Samir, Touha, Ilham et Nadjet*, vous êtes des amis et des frères/sœurs pour moi. Merci pour ton générosité et ton soutien.

Que Dieu vous donne tout le bonheur que vous méritez.

Abdelhakim.

Sommaire

Introduction générale	1
Partie I : Études Bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles	
1. Historique	3
2. Définition des huiles essentielles	3
3. Localisation des huiles essentielles	4
4. Propriété physico-chimique des huiles essentielles.....	5
5. Composition chimique des huiles essentielles	6
5.1. Les terpènes et les terpénoïdes	6
5.2. Les composés aromatiques	7
6. Biosynthèses des huiles essentielles.....	8
6.1. Voie des terpénoïdes.....	8
6.2. Voie des phénylpropanoïdes.....	9
7. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	9
7.1. Hydrodistillation	10
7.2. Entraînement à la vapeur d'eau	11
7.3. Hydrodiffusion.....	11
7.4. Extraction par solvant volatile	11
8. Les activités biologiques des huiles essentielles	12
8.1. Activité antibactérienne	12
8.2. Activité antifongique	13
8.3. Activité antioxydant.....	14
9. La toxicité des huiles essentielles.....	14
10. Mécanismes d'action des huiles essentielles.....	15
11. Les domaines d'utilisation des huiles essentielles	16
Chapitre II : Généralité sur les globules rouge	
1. Introduction	17
2. Définition et structure du globule rouge.....	17
2.1. Structure microscopique des hématies.....	18
3. Membrane du globule rouge.....	18
3.1. La membrane cytoplasmique.....	19
3.2. Le cytosquelette érythrocytaire.....	19
3.2.1. Les spectrines	19

3.2.2. Protéine 4.1	20
3.2.3. Actine	20
3.2.4. Ankyrine.....	21
4. Les protéines transmembranaires aux protéines intégrales	22
4.1. La protéine bande 3	23
4.2. La glycophorine A	23
5. L'origine des érythrocytes.....	24
5.1. Maturation de la ligne rouge (Erythropoïèse).....	24
5.2. Érythrolyse (Hémolyse physiologique)	25
5.3. Métabolisme et enzyme érythrocytaire.....	25
5.4. Hémolyse des érythrocytaire	26
6. Hémoglobine	26
6.1. Affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène	27
Chapitre III : Aperçu bibliographique sur les plantes à étudiées	
1. Notion sur les plantes médicinales	28
2. Présentation de la plante de <i>Matricaria Pubescens (Desf)</i>	29
2.1. Généralité sur <i>Matricaria pubescens (Desf)</i>	30
2.2. Description botanique.....	30
2.3. Répartition géographique.....	30
2.4. Usage traditionnelle médicinale	30
2.5. Etude chimique	31
3. Présentation de la plante d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	33
3.1. Généralité sur d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	34
3.2. Description botanique.....	34
3.3. Répartition géographique.....	34
3.4. Usage traditionnelle médicinale	35
3.5. Etude chimique	35
4. Présentation de la plante d' <i>Artemisia campestris</i>	37
4.1. Généralité sur d' <i>Artemisia campestris</i>	38
4.2. Description botanique	38
4.3. Répartition géographique.....	38
4.4. Usage traditionnelle médicinale	38
4.5. Etude chimique	39
5. Présentation de la plante <i>Thymus vulgaris L</i>	40
5.1. Généralité sur <i>Thymus vulgaris L</i>	41
5.2. Description botanique	41

5.3. Répartition géographique.....	42
5.4. Usage traditionnelle médicinale	42
5.5. Etude chimique	43
6. Présentation de la plante <i>Lavandula dentata</i>.....	44
6.1. Généralité sur <i>Lavandula dentata</i>	45
6.2. Description botanique	45
6.3. Répartition géographique.....	45
6.4. Usage traditionnelle médicinale	46
6.5. Etude chimique	46
Partie II : Matériel et méthodes	
1. Etude de la cytotoxicité de l'huile essentielle vis-à-vis des érythrocytes	47
1.1. Les huiles essentielles utilisées.....	47
1.2. Globules rouges	48
1.3. Méthodes de préparation.....	48
1.3.1. Préparation de la suspension érythrocytaire.....	48
1.3.2. Préparation de solution de lavage	48
1.3.3. Solution tampon	48
1.4. Evaluation de la cytotoxicité des huiles essentielles	48
1.4.1. Mode opératoire	48
2. Dosage de protéines totales	50
2.1. Préparation d'étalon.....	50
2.2. Préparation de réactif.....	50
2.3. Les échantillons	51
2.4. Mode opératoire.....	51
2.5. Expression des résultats.....	51
Partie III : Résultats et discussion	
1. Evaluation de la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des érythrocytes	52
A. La synergie entre deux HEs <i>Lavandula dentata</i> et <i>Ammodaucus leucotrichus</i>	63
2. Dosage de protéines totales	69
Conclusion et perspective.....	71
Référence bibliographique.....	72

Liste des tableaux

Tableau (1) : % des composés chimiques d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	36
Tableau (2) : Les différentes concentrations utilisées pour le test de la cytotoxicité	49
Tableau (3) : Contenus en protéines totales de suspension érythrocytaire après (0 et 60 min) de contact avec l'huile essentielle <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	69

Liste des figures

Figure (01) : Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles	04
Figure (02) : Localisation des huiles essentielles	05
Figure (03) : Exemples de structure des composés monoterpènes (Marianne, 2008)	07
Figure (04) : Exemple de structure des composés aromatiques (Kurkin, 2003)	07
Figure (05) : voie de biosynthèse des terpènes	09
Figure (06) : Appareille d'extraction type (<i>clevenger</i>)	10
Figure (07) : Schéma explicatif d'extraction par entraînement à vapeur	11
Figure (08) : Schéma explicatif d'extraction par solvants	12
Figure (09) : Dimension du globule rouge humain (Evans et al., 1972)	18
Figure (10) : Globule rouge humain vue par microscopie à force atomique, d'après (Touhami et al., 2002).	18
Figure (11) : Structure moléculaire des α - et β -spectrins. Hétérotétramères de α et β -spectrins sont disposés de façon antiparallèle. L'interaction en tête-à-tête et de l'interaction côte à côte (sur le site de nucléation) sont représentés sur cette figure. α -Spectrine est composée de cinq domaines (I à V), et le β -spectrine est composé de quatre domaines (I à IV).	20
Figure (12) : Structure des ankyrine de globules rouges. Structure érythroide ankyrine et ses sites de liaison de domaine Protéine sont représentés schématiquement. Bases génétiques de ankyrine 2.1 et 2.2 est également indiquée en bas à droite.	22
Figure (13) : Structure schématique de la membrane érythrocytaire (Lodish, H. et al., 1997)	23
Figure (14) : La plante de <i>Matricaria Pubescens</i> (<i>Desf.</i>)	29
Figure (15) : La fleur de la plante <i>Matricaria Pubescens</i> (<i>Desf.</i>)	29
Figure (16) : La plante d' <i>Ammodaucus-leucotrichus</i>	33
Figure (17) : La fleur de la plante d' <i>Ammodaucus-leucotrichus</i>	33
Figure (18) : La plante d' <i>Artemisia campestris</i> par Glen Lee	37
Figure (19) : La fleur d' <i>Artemisia campestris</i> par Glen Lee	37
Figure (20) : La plante de <i>Thymus vulgaris</i> par Frank Fischbach	40
Figure (21) : La fleur de la plante <i>Thymus vulgaris</i>	40
Figure (22) : La plante de <i>Lavandula dentata</i>	44

Figure (23) : La fleur de la plante de <i>Lavandula dentata</i>	44
Figure (24) : Représente Spectrophotomètre visible	50
Figure (25) : Préparation du Réactif	51
Figure (26) : représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 50 mg/ml.	53
Figure (27) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 25 mg/ml.	55
Figure (28) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 12.5 mg/ml.	56
Figure (29) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 6.25 mg/ml.	58
Figure (30) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 3.125 mg/ml.	59
Figure (31) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 1.56 mg/ml.	61
Figure (32) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 0.78 mg/ml.	62
Figure (33) : Représente les courbes (a) à (g) effet de la synergie de deux HEs (<i>Lavandula dentata</i> et <i>Ammodaucus leucotrichus</i>) à des concentrations 50 mg/ml jusqu'à 0.78 mg/ml respectivement.	64
Figure (34) : Photo présente la formation des agrégats	68
Figure (35) : Courbe d'étalonnage de BSA pour le dosage de protéines totales	69

Liste des abréviations

<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>A. leucotrichus</i>	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>
<i>A. campestris</i>	<i>Artemisia campestris</i>
ACTB	Actin beta (β -actine).
AFNOR	Association française de normalisation.
AMP	Adénosine monophosphate.
ARN	Acide ribonucléique.
ATP	Adénosine triphosphate.
BSA	Bovine serum albumine ''Albumine de sérum bovin.
CPG	Chromatographie en phase gazeuse.
CPG-SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
DL₅₀	Dose létale médiane.
DMSO	Diméthylsulfoxyde.
Hb	Hémobiologie.
HE	Huile essentielle.
ISO	Organisation internationale de normalisation.
KDa	Kilodalton.
MGG	May-Grünwald Giemsa.'' Une méthode de coloration
MN	Antigène de groupe sanguin
MVA	Mevalonic acid '' Acide mévalonique.
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
OMS	Organisation mondiale de la Santé.
RMN	Résonance magnétique nucléaire.
PBS	Phosphate buffered saline ''Tampon Phosphate Salé.
PEP	Acide Phosphoénolpyruvique.
PPAM	Professionnels des plantes à parfum aromatiques et médicinales.
PPDMA	Pyrophosphate de diméthylallyl.
PPG	Pyrophosphate de géranyle.
PPI	Pyrophosphate isopentyl.
SDS	Dodécylsulfate de sodium.
°C	Degré Celsius
μL	Microlitre
%	Pourcentage

Résumer

Artemisia campestris est un arbuste aromatique, appartenant à la famille des Astéracées, appelée communément par la population locale «Tegouft». *Lavandula dentata* (lavande dentée) est une plante aromatique, appartenant à la famille des Lamiacées, son nom vernaculaire «helhal». *Ammodaucus leucotrichus* appartenant à la famille des *Apiaceae*, c'est une plante à très forte odeur d'anis, le nom vernaculaire Nesoufa. *Matricaria pubescens* est une espèce endémique appartenant à la famille des *Compositae Asteraceae*. Connue par le nom d'ouazouaza. *Thymus vulgaris* est l'espèce la plus connue dans le genre *thymus*, appartenant à la famille des *Lamiacées* localement connue Zaatar.

Notre travail vise à évaluer l'activité cytotoxique des huiles essentielles des plantes mentionnées précédemment vis-à-vis des globules rouges humains, et de faire une synergie entre deux huiles essentielles pour déterminer leur effet lytique puis doser les protéines totales de la suspension érythrocytaire après une action lytique d'huile essentielle *Ammodaucus leucotrichus*.

Les tests d'hémolyse réalisés par la méthode spectrophotométrique présentent qu'*Artemisia campestris* induit une libération massive de l'hémoglobine par rapport aux autres HEs à des concentrations (50mg/ml ; 25mg/ml ; 12.5mg/ml ; 6.25mg/l ; 3.125mg/ml ; 1.56mg/ml) ainsi que la synergie entre (*Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus*) présente un effet cytolitique avec un taux 60% après 2 heures d'incubation. Et finalement le dosage des protéines totales après une action lytique par différentes concentrations d'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus* provoque la sortie des protéines érythrocytaires à concentration dès le premier contact (0 min).

Pour tous les tests, nous avons remarqué que les huiles essentielles peuvent être formées des agrégats ou les protéines peuvent être se précipiter.

Mots clés : *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, *Thymus vulgaris*, Cytotoxique, Huiles essentielles, Globules rouges humains, Synergie, Protéines totales, Hémolyse, Hémoglobine, agrégats.

Abstract

Artemisia campestris is an aromatic shrub belonging to the *Asteraceae* family, commonly called by locals "Tegouft". *Lavandula dentata* (toothed lavender) is an aromatic plant belonging to the *Lamiaceae* family, its common name "helhal". *Ammodaucus leucotrichus* it belonging to the family of *Abiaceae*, is a plant with very strong smell of anise, the common name Nsoufa. *Matricaria pubescens* is an endemic species belonging to the family *Asteraceae* compsitae. Known by the name of ouazouaza. *Thymus vulgaris* is the species most known in the genus thymus, belonging to the family *Lamiaceae*, locally known Zaatat.

Our job is to assess the cytotoxic activity of the essential oils of the plants mentioned above against human red blood cells, and make synergy between two essential oils to determine their lytic effect then assayed the total protein of the erythrocyte suspension after essential oil lytic action *Ammodaucus leucotrichus*.

The hemolysis tests performed by the spectrophotometric method .present that *Artemisia campestris* induces a massive release of hemoglobin compared to the other EOs at concentrations (50 mg / ml; 25 mg / ml; 12.5 mg / ml; 6.25 mg / l; 3.125 mg / ml; 1.56 mg / ml) and the synergy between (*Lavandula dentata* and *Ammodaucus leucotrichu*) present a cytolytic effect with a rate 60% after 2 hours incubation. And finally the determination of total protein after a lytic action by different concentration of essential oil of *Ammodaucus leucotrichus* causes the output of erythrocyte protein concentration from the first contact (0 min).

For all tests, we noticed that the essential oils can be formed aggregates or proteins may be rushing.

Key words: *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, *Thymus vulgaris*, cytotoxic, Essential oils, Human red blood, Synergy, Total protein Hemolys, Hemoglobin, aggregates.

ملخص

Artemisia campestris هي شجيرة عطرية تنتمي إلى عائلة *Asteraceae*، ويطلق عليها السكان المحليون التقفت

Lavandula dentata (الخزامى المسننة) هو نبات عطري ينتمي إلى عائلة *Lamiaceae*، والاسم الشائع لها لحلال .
leucotrichus Ammodaucus ينتمي إلى عائلة *Abiaceae*، هو نبات ذو رائحة قوية جدا من اليانسون. والاسم الشائع له
نسوفة. *Matricaria pubescens* هي من الأنواع المستوطنة تابعة لعائلة *Asteraceae*. المعروف باسم .ouazouaza.
Thymus vulgaris هو نوع الأكثر شهرة، الذي ينتمي إلى عائلة *Lamiaceae* المعروف بالزعتر.

مهمتنا هي تقييم نشاط السمية الخلوية للزيوت الأساسية المستخلصة من النباتات المذكورة أعلاه على خلايا الدم الحمراء البشرية، ثم المزج بين زيتين الأساسيين *Lavandula dentate* و *Ammodaucus leucotrichus* لتحديد تأثيرها على الكريات الحمراء. بإضافة إلى قياس التركيز الكلي للبروتينات في معلق الكريات الحمراء.

أظهرت اختبارات انحلال الدم على أن الزيت الأساسي لـ *Artemisia campestris* بتركيزات التالية (50 ملغ / مل، و 25 ملغ / مل، و 12.5 ملغ / مل، و 6.25 ملغم / لتر، و 3.125 ملغ / مل، و 1.56 ملغ / مل)، يؤدي إلى تحرير كميات كبيرة من الهيموغلوبين مقارنة بالزيوت الأساسية الأخرى والمزج بين الزيتين الأساسيين *Lavandula dentate* و *Ammodaucus leucotrichus* له تأثير على انحلال الكريات الدم الحمراء بمعدل 60% بعد ساعتين. وأخيرا قياس التركيز الكلي للبروتينات بعد عمل التحليل للزيت العطري *Ammodaucus leucotrichus* بتركيزات مختلفة يسبب إخراج بروتينات كريات الدم الحمراء من أول اتصال (0 دقيقة).

في جميع الاختبارات، لاحظنا أن الزيوت الأساسية يمكن أن تشكل مجاميع أو ترسب البروتينات .

الكلمات المفتاحية: *Artemisia campestris, Lavandula dentata, Ammodaucus leucotrichus, Matricaria pubescens, Thymus vulgaris*, الكريات الدم الحمراء، المزج بين الزيتين، التركيز الكلي للبروتينات، الهيموغلوبين، انحلال الدم، مجاميع.

Introduction

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**Schauenburg et Ferdinand, 2006**).

Après quelques siècles de domination de la synthèse chimique, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales, ce qui est le cas de toutes les plantes. Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Mais leurs usages traditionnels n'ont jamais disparus, bien au contraire. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2008, 80 % de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires (**Pierangeli et al., 2009**).

La composition chimique des huiles essentielles (HE) est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentant les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques (**Chaker El Kalmouni, 2010**).

On observe que les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées par les particuliers, dans des domaines aussi variés que la cosmétique, la parfumerie, l'agro-alimentaire, la pharmacie, et l'aromathérapie. L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est en croissance partout dans le monde, mais une majorité des personnes ne connaît certainement pas les effets secondaires éventuels des plantes, ni comment et quand elles peuvent être utilisées en toute sécurité (**Zakaria et al., 2012**).

La revue bibliographique de cette étude est articulée en trois chapitres. Le premier chapitre aborde des généralités sur les huiles essentielles et traite les activités biologiques des huiles essentielles. Le deuxième chapitre traite une généralité sur les globules rouges avec un aperçu sur ces constituants. Le troisième chapitre expose des généralités sur les plantes étudiées *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, *Thymus vulgaris*, et ses huiles essentielles. Cet aperçu bibliographique nous a apparu un appui à la partie expérimentale et à l'interprétation de nos résultats.

Introduction générale

La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes mis en œuvre l'évaluation de la cytotoxicité des huiles essentielles vis-à-vis des érythrocytes, puis le dosage de protéines totales d'une suspension érythrocytaire. La troisième partie expose les résultats obtenus suivis des interprétations et d'une conclusion générale avec des perspectives.

Synthèse
bibliographique

1. Historique des huiles essentielles :

La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes. Il plongeait, dans un même récipient rempli d'eau, des plantes odorantes et des pierres brûlantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle (**Robert, 2000**). Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes sont développés, notamment par les civilisations arabe et égyptienne, qui leurs attribuent avant tout un usage religieux (**Sell, 2006**).

Aujourd'hui, la communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des huiles essentielles, car un nombre non négligeable de composés volatils, tels que les sesquiterpènes, ont montré des activités pharmacologiques remarquables contre les maladies comme le cancer (**Modzelewska et al., 2005**).

Dans le bagage chimique des plantes, les huiles essentielles, les alcaloïdes et autres composés phénoliques, représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux (**Bouzouita et al., 2008**).

2. Définition des huiles essentielle :

Une huile essentielle est définie comme un liquide concentré de plante, de plus précisément un extrait de plante aromatique obtenu par plusieurs procédés, le plus utilisé est la distillation. Les huiles essentielles contiennent des molécules aromatiques qui possèdent des différentes actions bénéfiques. Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolées des plantes par hydro distillation ou par expression mécanique (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée.

Les définitions suivantes proviennent des pharmacopées (française et européenne), des normes (françaises AFNOR et internationales ISO) :

a. Selon la pharmacopée Européenne 7^{ème} édition

Une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit

par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

b. Selon AFNOR ISO 9235

Une huile essentielle est définie comme un « produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche.

3. Localisation des huiles essentielles :

Parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique [(Bruneton, 1999); (Degryse et al., 2008)].

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles, dans des poils sécréteurs, dans des poches sécrétrices ou dans des canaux sécréteurs [(Bruneton, 1999); (Hazzit, 2002); (Boz et al., 2009)]. (Figure 01)

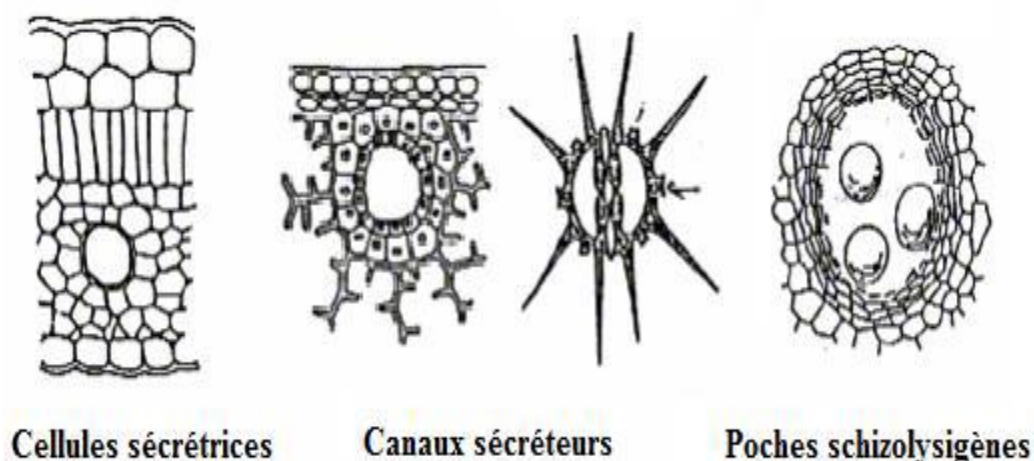


Figure (01) : Quelques organes sécréteurs d'huiles essentielles

Les poils sécréteurs ou poils glandulaires épidermiques sont rencontrés dans les organes de plantes de quelques familles : *Verbenaceae*, *Lamiaceae*, *Geraniaceae* et autres. Les canaux sécréteurs ou canaux glandulaires sont présents dans la plupart des bois résineux de la famille des *Abiétacées* et

des *Cupressacées* ; ces glandes sont aussi retrouvées dans des organes des espèces de la famille des *Burseraceae*, des *Anacardiaceae*, *Apiaceae* et *Dipterocarpaceae*. Les poches sphériques schizogènes sont des glandes qu'on retrouve chez les espèces de la famille des *Rubiaceae*, *Rutaceae*, *Asteraceae*, *Hypericaceae* et *Rosaceae*. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux [(Bruneton, 1993) ; (Anton et Lobstein, 2005)]. (Figure 02)

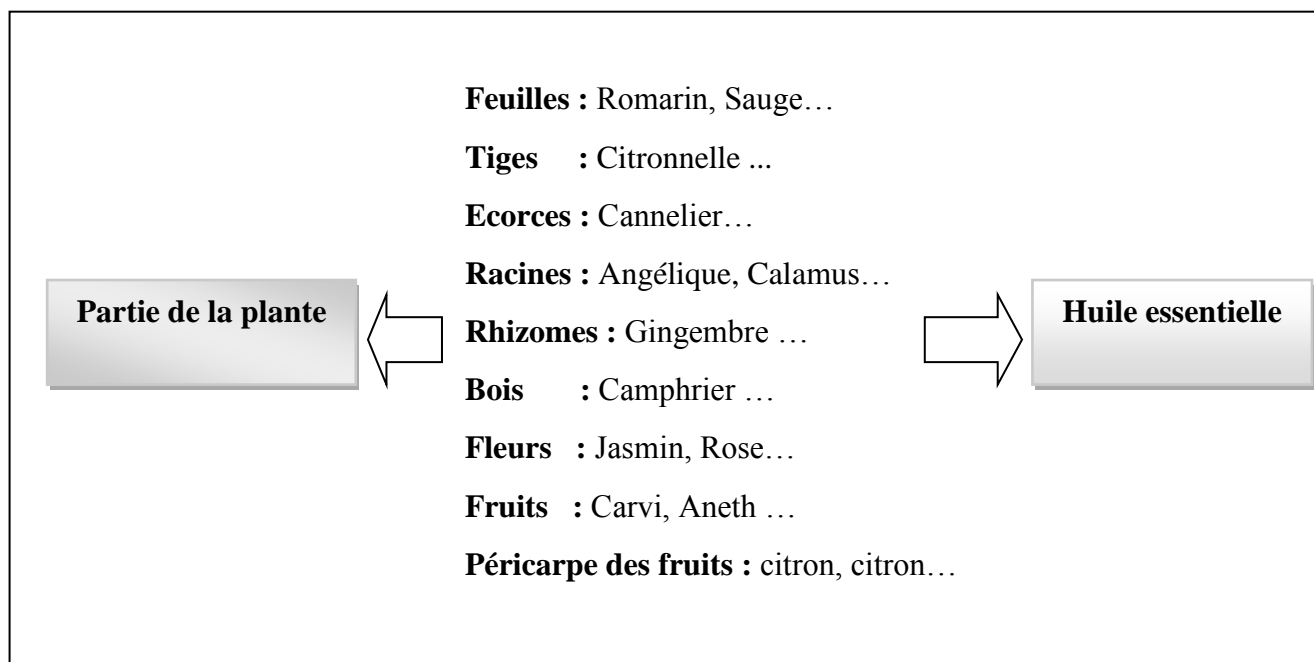


Figure (02) : Localisation des huiles essentielles

4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (Degryse et al., 2008).

Toutes les huiles essentielles sont volatiles, odorantes et inflammables et leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau. Ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et de saffras (Charpentier, 2008).

Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (Optiquement active) [(Bruneton, 1999) ; (Rhayour, 2002) ; (Desmares et al., 2008)].

Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (Bernadet, 2000).

5. Composition Chimique des huiles essentielles :

D'un point de vue général, une huile essentielle se définit chimiquement comme un mélange complexe constitué d'environ 20-60 composés à des concentrations différentes (**Bakkali, F. et al., 2008**). Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte [(**Delaquis et al., 2002**) ; (**Gonny et al., 2004**) ; (**Burt, 2004**)]. Le principal groupe est composé de terpènes et les terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (**Ruberto et Baratta, 2000**), les autres groupes comprennent les composés aromatiques (phénoliques) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (alcanes et alcènes) qui sont généralement en trace. Tous les composés sont caractérisés par un faible poids moléculaire (**Bakkali et al., 2008**).

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Salzer, 1977**). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (**Tomi et al., 1995**).

5.1. Les terpènes et les terpénoïdes :

Les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » (C_3H_8), soit deux unités pour les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) (**Figure 03**) et trois pour les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$). Exceptionnellement, quelques di terpènes ($C_{20}H_{32}$) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles (**Vila et al., 2002**). Plusieurs milliers de composés appartenant à la famille des terpènes ont, à ce jour, été identifiés dans les huiles essentielles (**Modzelewska et al., 2005**).

Dans le cas des huiles essentielles, seuls sont rencontrés les terpénoïdes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, principalement les mono et sesquiterpénoïdes et beaucoup plus rarement les diterpénoïdes. Les monoterpénoïdes représentent à eux seuls environ 90 % des huiles essentielles. (**Bakkali, F. 2008**).

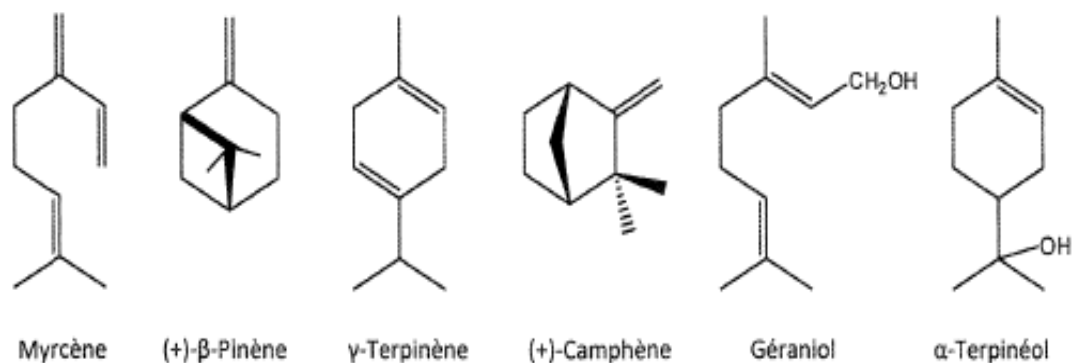


Figure (03) : Exemples de structure des composés monoterpènes (Marianne, 2008)

5.2. Les composés aromatiques :

Les composés aromatiques (**Figure 4**) sont des dérivés du phénylpropane. Ils sont moins abondants que les terpènes. Deux classes de composés aromatiques peuvent être distinguées : les composés substitués sur le noyau de benzène et les dérivés dans lesquels le substituant est directement attaché au cycle benzénique de la chaîne latérale des composés substitués. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'*Apiaceae* (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc. (Bruneton et al., 1993).

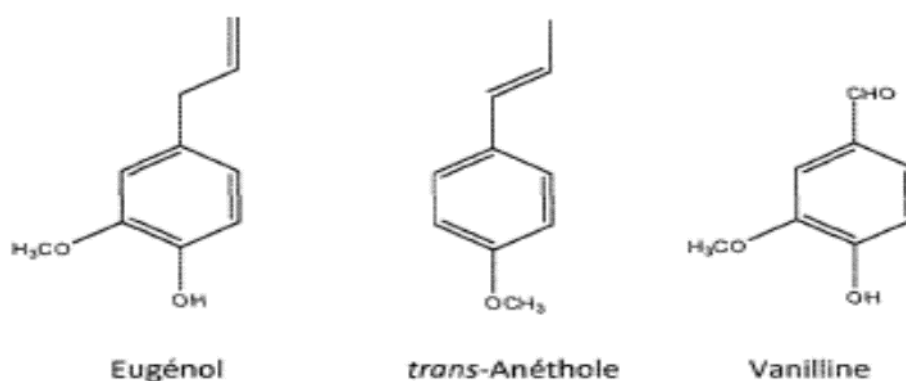


Figure (04) : Exemple de structure des composés aromatiques (Kurkin, 2003)

Enfin, il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation, diterpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites molécules odorantes, comme par exemple le (3Z)-hexén-1-ol ou le décaneal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et *o*-linoléique) (Bruneton, 1999)

6. Biosynthèse des huiles essentielles :

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante. Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production des huiles essentielles. Certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse, etc. (**Garnéro, 1996**)

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent à deux séries distinctes : la série terpénique et la série des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (beaucoup moins fréquents). donc La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies (**Mann, 1987**) :

6.1. Voie des terpénoïdes :

La biosynthèse végétale des terpènes prend son origine au niveau de l'acétyl coenzyme A (CH_3COSCoA). La voie mévalonique est la plus connue. Il existe, en particulier chez les bactéries et les plantes une voie dite « non mévalonique ». Pour la voie principale : La 1^{ère} étape est une condensation de type Claisen entre deux molécules d'acétyl-CoA pour conduire à l'acétoacétyl-CoA. La 2^{ème} étape est une réaction d'aldolisation entre une 3^{ème} molécule d'acétyl-CoA et l'acétoacétyl-CoA. Après hydrolyse et réduction par NADPH (Nicotine Adénine Dinucléotide Phosphate), il se forme l'acide mévalonique. Après pyrophosphorylation par l'ATP (Adénosine Triphosphate), la déshydratation et la décarboxylation par une élimination concertée permettent d'atteindre les 2 intermédiaires en C_5 , bio-précurseur des terpènes : le pyrophosphate d'isopentényle en équilibre, par simple transfert de proton, avec le pyrophosphate de diméthylallyle. Les deux intermédiaires en C_5 réagissent alors l'un sur l'autre pour conduire au pyrophosphate de géranyle point de départ de tous les monoterpènes et des autres précurseurs de terpénoïdes. (**Belloum, 2007**).

D'une manière générale, la biosynthèse des terpènes et des terpenoïdes suit trois étapes fondamentales (**Eychenne et al., 1999**) :

- l'étape initiale correspond à une condensation aldolique de l'acétylcoenzyme A sur l'acétoacétyl coenzyme A conduisant à la formation du (3S)-3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A. Ce dernier serait ensuite réduit en acide (3R)-mévalonique MVA.
- la deuxième étape débute par la conversion du MVA en pyrophosphate d'isopentényle (PPI) qui s'isomérisent selon un processus réversible en pyrophosphate de diméthylallyle (PPDMA),

espèce plus réactive et susceptible d'alkyler divers sites nucléophiles. Elle s'achève par la condensation "Tête-à-Queue" des deux unités en C₅ : PPI et PPDMA et conduit à la formation du pyrophosphate de géranyle (PPG).

- la troisième étape regroupe les condensations "Tête-à-Queue" ou "Tête-à-Tête" à partir du PPG et différentes autres isomérisations.

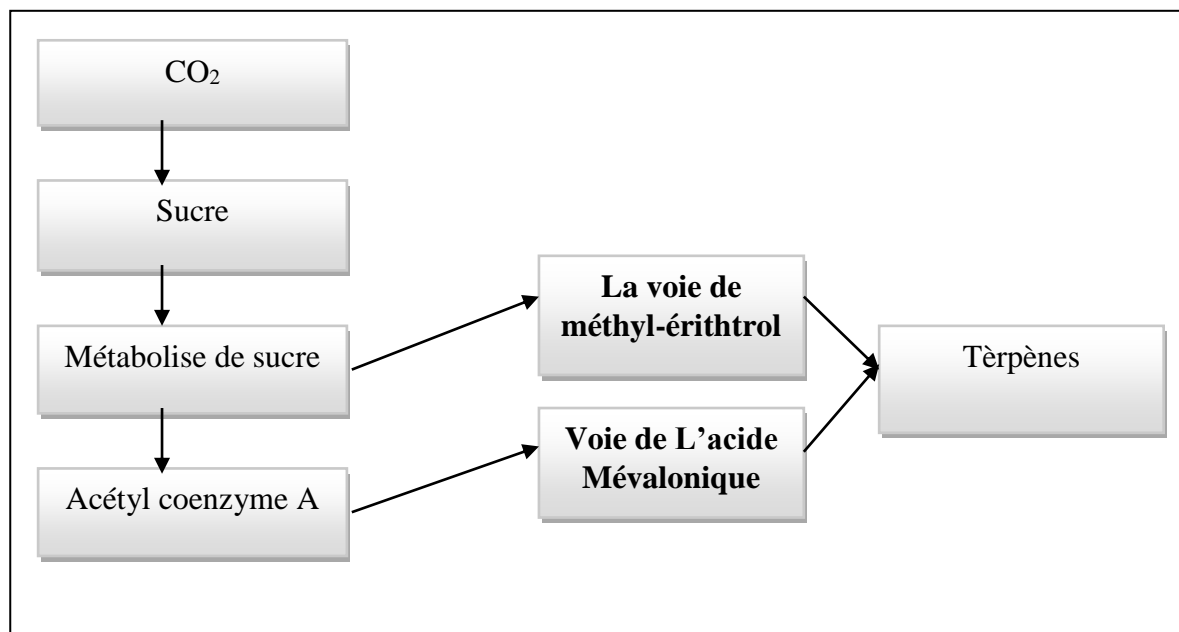


Figure (05) : voie de biosynthèse des terpènes

6.2. Voie des Phénylpropanoïdes

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phénylpropanoïdes commence par le PEP (phosphoenolpyruvate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série d'acides, dont l'acide shikimique (d'où son nom, voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants : acides salicylique, cinnamique et benzoïque et leurs esters dont le salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines. Quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluse dans cette voie (Ntezurubanza, 2000).

7. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles est un processus très important de l'importance de la qualité des huiles essentielles eux même ; il existe plusieurs techniques d'exploitation des plantes aromatique,

cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants.

La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (**Fernandez et Cabrol-Bass, 2007**). L'hydrodistillation reste le moyen le plus employé pour produire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales et médicinales (**Burt, 2004**). Les huiles essentielles peuvent être obtenues par :

7.1. Hydrodistillation :

L'hydrodistillation reste le moyen le plus employé pour produire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales et médicinales (**Burt, 2004**).

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le Principe d'hydrodistillation consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. (**Abderrahim, 2011**).



Figure (06) : Appareil d'extraction type (*clevenger*)

7.2. Entraînement à la vapeur d'eau :

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Franchomme *et al.*, 2003).

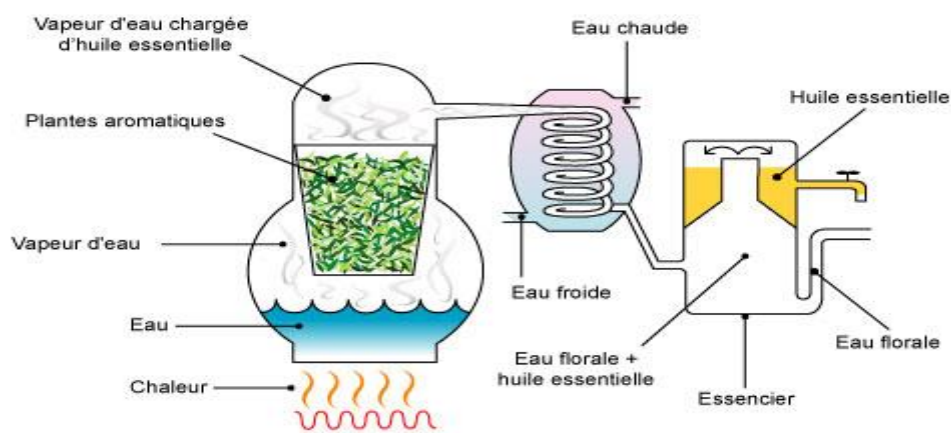


Figure (07) : Schéma explicatif d'extraction par entraînement à la vapeur

7.3. Hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur. (Abderrahim, 2011)

7.4. Extraction par solvants volatils :

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil (peuvent être des solvants usuels utilisés en chimie organique (hexane, éther de pétrole) mais aussi des graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras) et la

matière végétale à traiter, Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres [(Richard, 1992) ; (Robert, 2000)].

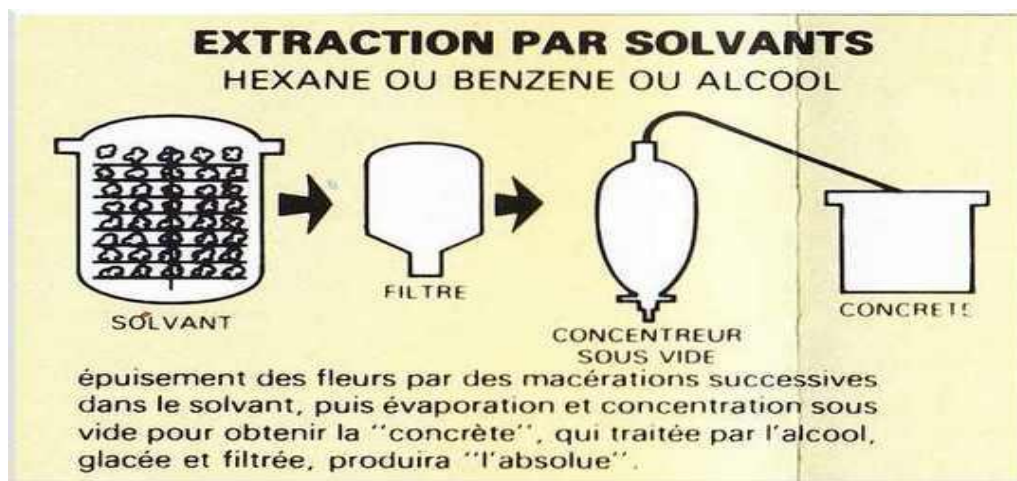


Figure (08) : Schéma explicatif d'extraction par solvants

8. Activités biologiques des huiles essentielles :

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antimicrobiennes et antioxydants des huiles essentielles des plantes aromatiques. (Bouguerra, A. 2012)

L'utilisation de plus en plus fréquente des huiles essentielles s'explique principalement par la multiplicité et complexité de leur composition chimique que les huiles essentielles acquièrent chacune un spectre d'action spécifique. En effet, celles-ci peuvent posséder de nombreuses activités biologiques :

8.1. Activité antibactérienne :

Les plantes aromatiques qui sont la source des huiles essentielles utilisées à forte longtemps dans les préparations alimentaires non seulement pour le goût qu'elles apportent mais également pour leurs propriétés biologiques et plus précisément activité antimicrobienne, les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune : elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol.

Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous. Reconnu pour être non toxique, il est Utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* [(Pauli, 2001) ; (Fabian et al., 2006)]

Plusieurs travaux ont montré que les huiles essentielles de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires [(Bilgramiet al., 1992) ; (Beraoud, 1990) ; (Nielsen et Rios, 2000)].

Avec l'émergence de microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques, les huiles essentielles antimicrobiennes présentent une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques contre les pathologies infectieuses. Beaucoup de groupes de recherche ont étudié, par exemple, l'effet de l'huile essentielle de *Melaleuca altemifolia* contre la souche *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline «methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*» ou MRSAj [(Dryden et al., 2004) ; (Chan et al., 1998) ; (Carson et al., 1995)] .

8.2. Activités Antifongique :

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origines fongiques (Burt, S. 2004)

La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont encore ici les composés les plus actifs. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons : *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum*, et bien d'autres (Kalemba et al., 2003).

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Lis-Balchin, 2002).

8.3. Activité antioxydant :

De nombreuses huiles essentielles, comme les huiles de cannelle, de piment, de laurier et d'origan, présentent un pouvoir antioxydant [(Mantle et al., 1998) ; (Karioti et al., 2006)]. Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation (Multon, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc (Madhavi et al., 1996). Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (Richard, 1992).

9. Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont présentées généralement comme « sans danger ». Mais ces substances naturelles sont aussi des composés puissants (Degryse et al., 2008). Par leur composition chimique complexe, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome (Benzeggouta, 2005).

Les effets toxiques d'une huile essentielle varient considérablement selon sa nature (Traoré, 2006). Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxiques. Les huiles essentielles du *thym* et de la *lavande*, selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact ; à titre d'exemple, elles sont avérées cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois. Par ailleurs, des huiles essentielles de différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées du cancer (Pibiri, 2006).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde (Smith et al., 2000), ou phototoxique (huiles de *citrus* contenant des furocoumarines (Naganuma et al., 1985). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l'athujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (Franchomme et al., 1990). Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (Homburger et al., 1968). C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le saffrole (*Sassafras*), l'estragole (*Artemisia*

dracunculus), la j3-asarone (*Acorus calamus*) et le méthyl-eugénol. Des chercheurs ont mis en évidence l'activité hepatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs (**Wiseman et al., 1987**). Le safrole et S'estragole, par exemple, sont métabolisés par les microsomes au niveau du foie des rats et des souris en dérivés hydroxylés puis en esters sulfuriques électrophiles qui eux sont capables d'interagir avec les acides nucléiques et les protéines (**Kim et al., 1999**), Toutefois, ces résultats sont controversés car il existe des différences chez l'homme dans le processus de métabolisation de ces composés. Le safrole, par exemple, est métabolisé chez l'humain en dihydroxysafrole et trihydroxysafrole non cancérigènes (**Franchomme et al., 1990**). De plus, tout dépend de la dose administrée lors des expériences et bien souvent la dose absorbée par l'animal est loin de correspondre à celle qu'un homme est susceptible d'ingérer par jour (**Guba, 2001**).

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë faible ou très faible par voie orale: une DL50 comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées (*anis, eucalyptus, girofle*, etc.) ou le plus fréquemment supérieure à 5 g/kg (*camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver*, etc.) ; d'autres ont une DL50 inférieure à 1g/kg : l'huile essentielle de boldo (0.13 g/kg) ; l'essence de moutarde (0.34 g/kg) ; les essences d'origan et de la sarriette (1.37 g/kg) ; les huiles essentielles du basilic, de l'estragon et de l'hysope (1.5 ml/kg). Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue [(**Bruneton, 1999**) ; (**Benzeggouta, 2005**)].

10. Mécanisme d'action des huiles essentielles :

La plupart des mécanismes d'action des huiles essentielles sont en relation avec la composition chimiques des huiles qui va interagir avec la membrane cellulaire, membranes cellulaires qui fuient ou fonctionnent mal ne seraient pas nécessairement conduire à la mort cellulaire, mais seraient très probablement provoquer une décélération des processus métaboliques tels que la division cellulaire [(**Darvill et Albersheim, 1984**) ; (**Kubo et al., 1985**)]. Carvacrol, un composant actif de nombreuses huiles essentielles, a été montré pour déstabiliser le cytoplasme et les membranes extérieures et d'agir

comme un "échangeur de protons", ce qui entraîne une réduction du gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique [(**Helander et al., 1998**) ; (**Lambert et al., 2001**) ; (**Ulteet et al., 2002**)]. L'effondrement de la force proton motrice et l'appauvrissement de la piscine ATP a finalement conduit à la mort cellulaire (**Ulteet et al., 2002**). La perméabilité de la membrane cellulaire dépend de leur composition et le caractère hydrophobe des solutés qui les traversent [(**Sikkemaet et al., 1995**) ; (**Helander et al., 1998**) ; (**Ulteet et al., 2002**)]. Les températures diminuent la solubilité

des huiles essentielles et empêchent la pénétration de la phase lipidique de la membrane (**Wanda et al., 1976**).

En général, le mode d'action des huiles essentielles est dépendant de la concentration (**Prindle et Wright, 1977**). De faibles concentrations inhibent les enzymes associées à la production comme de nombreux autres agents de conservation, les huiles essentielles de provoquer des fuites d'ions, de l'ATP, des acides nucléiques et d'acides aminés [(**Tranteret et al., 1993**) ; (**Gonzalez et al., 1996**) ; (**Taharaet al., 1996**) ; (**Helanderet et al., 1998**) ; (**Cox et al., 1998**) ; (**Ulteet et al., 1999**)

11. Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

La composition chimique des huiles essentielles confère à ces extraits aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes. Ces caractéristiques offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture. Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers (**Aburjai et al., 2003**)

Les vertus thérapeutiques des PPAM et des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis très longtemps, notamment en Asie où ces produits naturels constituent la base de la médecine traditionnelle. Il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutiques et aromathérapies. En pharmacie, les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses et à la production d'antiseptiques. (**Bruneton et al., 1999**)

L'ensemble des secteurs de l'agro-alimentaire sont consommateurs d'huiles essentielles : alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, snacks, produits de boulangerie mais également la nutrition animale. (**Bruneton et al., 1999**). Les huiles essentielles ou leurs isolats sont employés aussi bien pour leurs propriétés antibactériennes qu'aromatisants. Les premières permettent aux huiles essentielles de jouer le rôle de conservateurs alimentaires. [(**Burt, S et al., 2004**) ; (**Tiwari et al., 2009**)].

1. Introduction sur les globules rouges :

C'est la circulation du sang qui assure les échanges respiratoires et nutritifs indispensables à la vie ; c'est elle qui règle la constance du milieu intérieur. Le sang est donc un tissu très particulier, en perpétuel transit, et pourvoyeur d'innombrables échanges. En plus de ses constituants primordiaux, il transporte sous une très faible concentration des substances qui interviennent puissamment dans les métabolismes cellulaires, dans les mécanismes de régulation et coordination, et dans la défense des tissus contre les agressions étrangères. La composition singulièrement riche du sang peut se schématiser en une phase liquide, dispersante, le plasma, et une phase solide, dispersée dans tout l'organisme, constituée par les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes. La couleur rouge du sang est due à la présence dans chaque millimètre cube, de 5 millions d'érythrocytes chargé d'hémoglobine. Les érythrocytes ne doivent plus d'être considérés comme de simples sacs d'hémoglobine et de minuscules osmomètres privés de vie par perte de leur noyau. Ce sont des cellules bien vivantes, Parfaitement adaptées par leur forme et par leur paroi semi-perméable à leur fonction respiratoire. **(Georges et Gérard, 1967)**

2. Définition et structure du globule rouge :

Le globule rouge (hématie, érythrocyte). Elle est ainsi appelée à cause de la couleur rouge-rosée qu'elle prend à la coloration de May Grunwald Giemsa (MGG), au microscope optique. Cette coloration est due à son contenu en hémoglobine **(Aguilar Martinez, P. et Janvier 2007)**. Hématie est une cellule anucléée contenant environ 33% d'hémoglobine ayant de face la forme d'un disque arrondi et de profil la forme d'une lentille biconcave. Le diamètre moyen du globule rouge humain est de 7,80 μm , son épaisseur en périphérie est de 2,4 μm , au centre de 1,4 μm **(Figure 8) (Cynober et al., 2000)**. Une espérance de vie d'environ 120 jours.

La forme particulière du globule rouge lui permet :

- d'avoir une plus grande surface par rapport à son volume que la forme sphérique, ce qui favorise les échanges d'oxygène.
- d'avoir une plus grande déformabilité que la forme sphérique, plus rigide. Ceci permet le passage du globule **(Aguilar Martinez, P. et Janvier 2007)**.

Le nombre de globules rouges est d'environ 5 tera/l (millions/mm³), taux un peu plus élevé chez l'homme que chez la femme (5,7 et 4,5 tera/l).

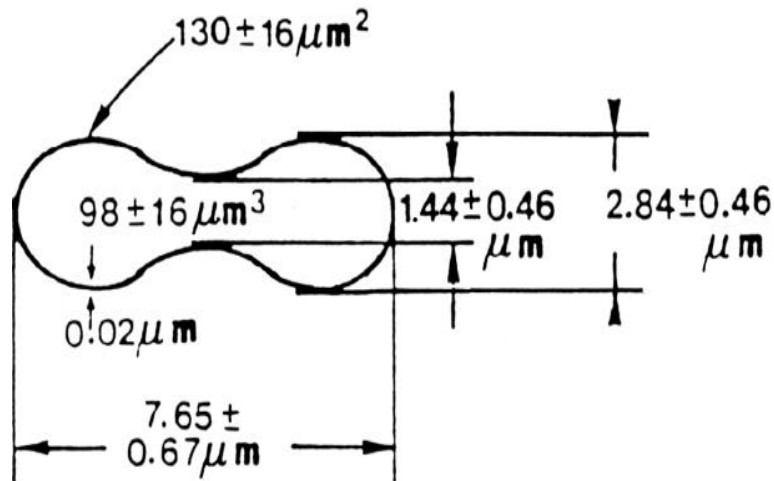


Figure (9) : Dimension du globule rouge humain (Evans et al., 1972)

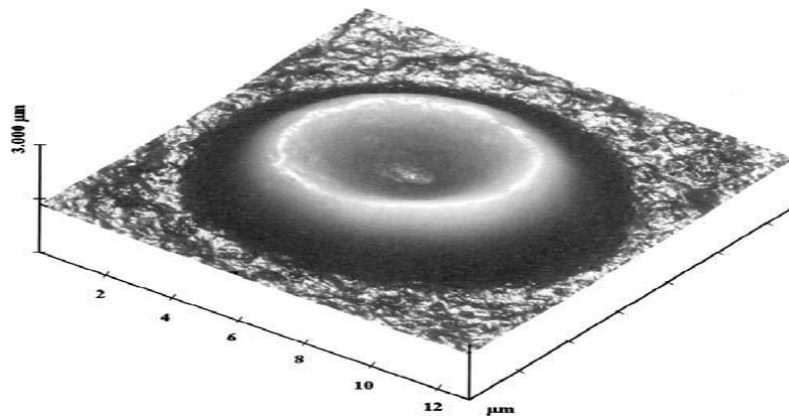


Figure (10) : Globule rouge humain vue par microscopie à force atomique, d'après (Touhami et al., 2002).

2.1. Structure infra microscopique des hématies :

Le globule rouge est souvent comparé à un "sac" contenant de l'hémoglobine et les molécules énergétiques indispensables à sa survie. Sa structure se décompose schématiquement en trois éléments : la membrane, les enzymes et l'hémoglobine (Aguilar Martinez, P. et Janvier 2007).

3. Membrane du globule rouge :

Le globule rouge humain a le grand avantage d'être la plus simple des cellules : il a perdu noyau, organelles et cytosquelette au cours de sa maturation, et il s'agit simplement d'un sac contenant une solution d'hémoglobine et fermé par une membrane. Celle-ci est, comme toutes les membranes, une

bicouche lipidique contenant de nombreuses protéines membranaires (dont les canaux ioniques, indispensables aux échanges gazeux). Donc La membrane du globule rouge comporte :

3.1. La membrane cytoplasmique :

Sa structure est celle d'une membrane cellulaire classique, elle est constituée d'une bicouche lipidique (40Å d'épaisseur) où s'intercalent des protéines. Certaines protéines sont des transporteurs d'ions, d'autres sont des récepteurs membranaires. Une partie de ces protéines est porteuse des fonctions antigéniques du globule rouge et des groupes sanguins érythrocytaires (ABO, Rhésus, etc...). (Aguilar Martinez, P. et Janvier 2007).

3.2. Le cytosquelette érythrocytaire (ou squelette membranaire) :

Le cytosquelette est le résidu insoluble qui reste après le traitement de la membrane avec les détergeant non-ioniques comme le Triton X-100. Il est associé à la surface cytoplasmique de la membrane et est formé par différents polypeptides qui interagissent fortement entre eux et avec les protéines transmembranaires.

Les unités ont été cytosquelette essentiellement composés de filaments minces. Ces filaments sont 63 ± 17 nm de long et 12 ± 4 nm de large, et les structures de bouton-like, qui ont été fixés sur les plus longues, des filaments plus minces, ont également été observés. (Yawata et al., 1994).

Le cytosquelette possède dans sa structure trois composants majeurs : la spectrine, l'actine et protéines 4.1, Et d'autre protéine mineure :

3.2.1. Les Spectrines :

Sont les protéines les plus abondantes et les plus importantes de protéines du squelette de la membrane des globules rouges. Ils constituent environ 25 à 30% des protéines membranaires totales ou 75% des protéines du squelette de la membrane et sont présentes à une concentration d'environ 200 000 copies par globule rouge. [(Gallagher et al., 1993) ; (Bennett et al., 1991)].

Spectrins sont composées de deux sous-unités, l' α -chaîne et la β -chaîne qui sont ainsi appelés α -spectrine (2429 acides aminés, environ 280 kDa) et β -spectrine (2137 acides aminés, environ 246 kDa) (Figure 10).

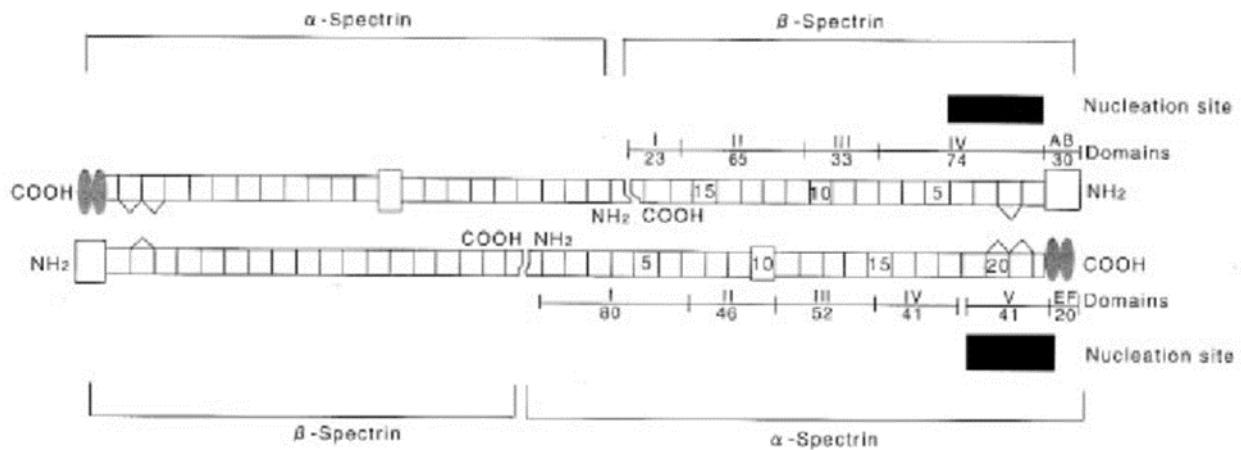


Figure (11) : Structure moléculaire des α - et β -spectrines. Hétérotétramères de α et β -spectrines sont disposés de façon antiparallèle. L'interaction en tête-à-tête et de l'interaction côte à côte (sur le site de nucléation) sont représentés sur cette figure. α -Spectrine est composée de cinq domaines (I à V), et le β -spectrine est composé de quatre domaines (I à IV).

Les Spectrines sont les protéines correspondant à la composition du réseau cytosquelettique, qui régule la forme des cellules, aptitude à la déformation et à la stabilité membranaire, ainsi que la mobilité latérale de la bande 3 en tant que protéine intégrale [(Gallagher *et al.*, 1993) ; (Bennett *et al.*, 1991)].

3.2.2. Protéine 4.1

Protéine 4.1 dans les globules rouges est une phosphoprotéine présent dans (200 x 10³) copies par cellule [(Conby J.G. 1993) ; (Leto *et al.*, 1984)]. La protéine clonée est globulaire (5,7 nm de diamètre) et a une masse moléculaire de 66 kDa, mais migre sous forme d'une protéine de 78 ou 80 kDa sur des gels de SDS-PAGE. Le gène de la protéine 4,1 (EL1 ou EPB41) [(Huang *et al.*, 1993) ; (Baklouti *et al.*, 1997)], est localisé sur le chromosome 1p36.1 (Kimet *et al.*, 1998) qui code pour 588 acides aminés.

Le rôle le plus important de la protéine 4,1 est dans la liaison de la membrane squelette spectrine-actine à la double couche lipidique en facilitant la formation d'un complexe entre les fibres de la spectrine-actine [(Conby, J.G. 1993) ; (Gimm *et al.*, 2002)].

3.2.3. Actine :

Actine de globules rouges (β -actine), qui est une protéine de 43 kDa est présente en abondance (400-500 x 10³ copies par cellule rouge). Le contenu de l'actine de globules rouges est de 5,5% (poids / poids) du total des rouges protéines de la membrane cellulaire [(Gilligan *et al.*, 1993) ;

(Byers *et al.*, 1985)]. Le gène de la β -actine (ACTB) est situé sur le chromosome 7 (7p12-p22) codant pour 375 acides aminés. L'actine de globules rouges est similaire aux autres actines dans sa structure et ses fonctions. Bien que la β -actine est réparti dans diverses cellules non musculaires, y compris les globules rouges, l'actine des globules rouges est organisée comme courts protofilaments double hélice F-actine de 12 à 13 monomères de long et environ 35 nm de longueur. Elle interagit avec spectrins, adducin, protéine 4.1, et tropomyosine pour le bien de leur stabilité [(Gimm *et al.*, 2002) ; (Gilligan *et al.*, 1993) ; (Kuhlman *et al.*, 1996) ; (Picart *et al.*, 1999)]. Et se lie également à tropomodulin par écrêtement de la croissance lente ou extrémité pointue du filament d'actine. L'état de la polymérisation de l'actine est fonctionnellement important pour la rouge flexibilité de la membrane cellulaire, ce qui augmente lorsque la polymérisation d'actine est inhibée. Il est également vrai que la polymérisation de l'actine accrue rend la membrane des globules rouges lus rigide. Spectrine dimères se lient à côté des filaments d'actine à un emplacement près de l'extrémité de queue de la molécule de la spectrine. En moyenne, six spectrine se termine faire un complexe avec chaque oligomère actine, produisant un réseau irrégulier, qui est approximativement hexagonale (Byers *et al.*, 1985). Chaque jonction spectrine-actine est stabilisée par la formation d'un complexe ternaire avec la protéine 4,1 (Gimm *et al.*, 2002).

3.2.4. Ankyrine :

Ankyrine est l'une des principales protéines de globules rouges humains, spécifiquement est une protéine d'ancrage. Ce qui représente environ 5% du total des protéines membranaires (Bennett *et al.*, 1979) ; (Bennett *et al.*, 1992). Ankyrine est une grande protéine de 206 kDa de sulfhydrylrich avec une taille moléculaire de 8,3 x 10 nm. Il est présent à un niveau de (120 x 10³) des copies par cellule.

Fonctionnellement, l'ankyrine est lié à β -spectrine par l'intermédiaire d'une liaison à haute affinité (Kd ~ 10⁻⁷ M) et avec le domaine cytoplasmique de la bande 3, qui dispose également d'une liaison à haute affinité (Kd ~ 10⁻⁷ à 10⁻⁸ M) [(Weaver *et al.*, 1984) ; (Wallin *et al.*, 1984)]. Ankyrine est une protéine polaire, et est impliquée dans la ségrégation locale des protéines membranaires intégrales. [(Lux *et al.*, 1990) ; (Gallagher *et al.*, 1998)].

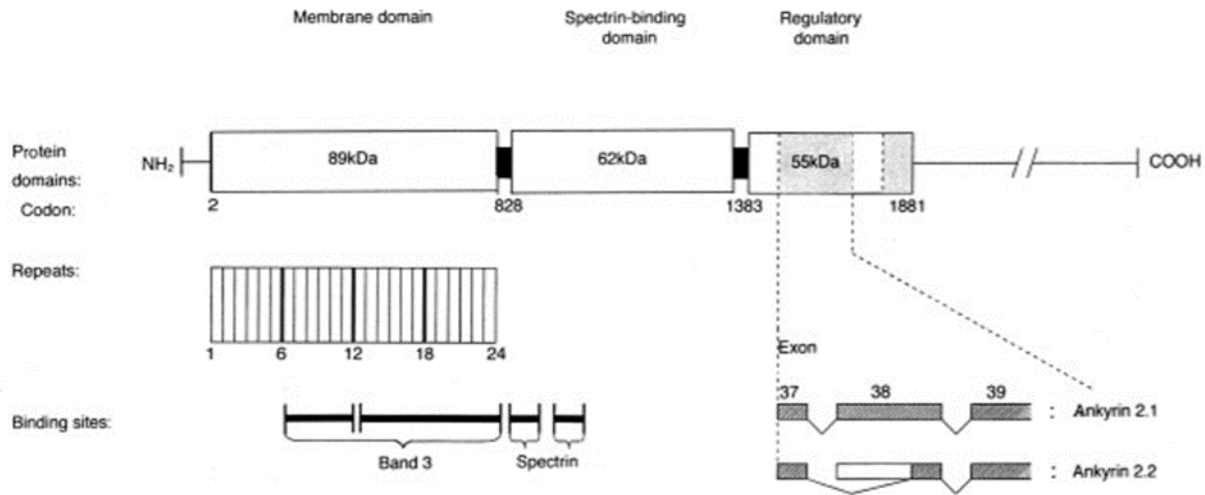


Figure (12) : Structure des ankyrine de globules rouges. Structure érythroïdeankyrine et ses sites de liaison de domaine Protéine sont représentés schématiquement. Bases génétiques de ankyrine 2.1 et 2.2 est également indiquée en bas à droite.

4. Les protéines transmembranaires ou protéines intégrales :

Ces protéines se caractérisent par leur position au sein de la bicouche lipidique. Elles sont dites transmembranaires, c'est-à-dire qu'elles traversent la bicouche lipidique de part en part. Elles possèdent donc une partie extracellulaire et une partie intracellulaire (**Guillaume et Lenormand, 2001**). Beaucoup sont impliquées dans le transport d'ions et de petites molécules organiques. Le domaine extracellulaire est le plus souvent glycosylé et porte les antigènes de groupes sanguins. Le domaine intra-membranaire est très hydrophobe et traverse la bicouche en une ou plusieurs hélices. Le domaine cytoplasmique est le domaine qui se lie avec les protéines périphériques (**Julie-Anne DO-ROUVIERE, 2008**).

Ces protéines intégrales, dont les deux plus importantes en nombre sont la protéine de **la bande 3** et **les glycophorines (sialoglycoprotéines)**, servent de point d'ancrage au squelette.

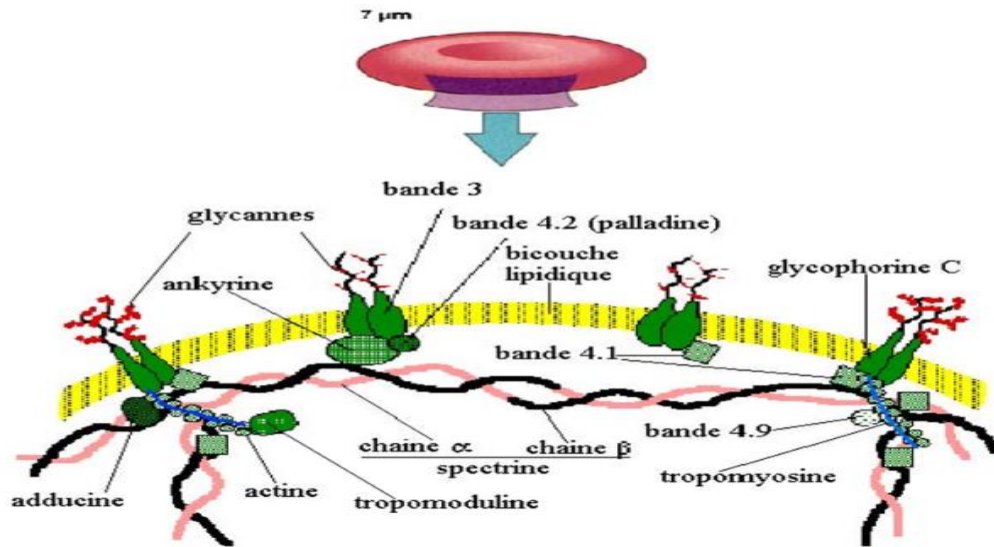


Figure (13) : Structure schématique de la membrane érythrocytaire (Lodish, H. et al., 1997)

4.1. La protéine bande 3

Elle est connue aussi sous le nom de protéine érythrocytaire échangeuse d'anions (AE1), permettant le passage des ions (chlorures Cl et bicarbonates 3 HCO) à travers la bicouche lipidique. C'est une protéine de grande taille (95 kDa) qui franchit la membrane plus de dix fois. Représentant 25 à 30 % des protéines membranaires. Band 3 [(Steck, T. L. 1978) ; (Macara, G. et Cantley, L. C. 1983)], est une glycoprotéine présente dans environ 10^6 copies par cellule et contient un canal de transport d'anions (Cabantchik, Z. et al., 1978).

4.2. La glycophorine A

Les plus importantes sialoglyco protéines sont les glycophorines, Glycophorin A est la principale glycoprotéine contenant de l'acide sialique (MN- ou α -sialylglycoprotéine), qui peut être séparée facilement des autres composants mineurs, les glycophorines B (SS glycoprotéines), C, D et E. Et contient des antigènes de groupes sanguins et des sites de liaison pour les lectines et les virus (Marchesi, V. T. et al., 1976). Elle représente environ 1 à 2% de la totalité des protéines membranaires. De même que la protéine bande 3, la glycophorine A traversé la membrane de part en part à une masse moléculaire de 31 kDa.

La glycophorine A est reconnue comme la plus sialylée des glycoprotéines de la membrane érythrocytaire (51% des protéines totales). Elle Porte donc la plupart des charges négatives de cette

dernière. En effet, elle contient 25% d'acide sialique et représente 80% de la quantité totale d'acide sialique présent dans les glycoconjugués membranaires de l'érythrocyte

La glycophorine A est reconnue comme une glycoprotéine très importante dans le domaine de l'immunologie en raison du fait qu'elle porte les déterminants de quelques épitopes spécifiques de groupes tissulaires : système ABO, antigènes Pr2, T, Tn, Cad et Mg (**Schauer et al., 1997**).

5. L'origine des érythrocytes :

Le principe général de la genèse des éléments du sang est celui d'une différenciation progressive, à partir d'une cellule originelle, embryonnaire, commune à toutes les cellules sanguines, qu'il s'agisse de la série rouge, de la série blanche ou de la série plaquettaire. Cette cellule embryonnaire, encore appelée cellule-souche, se trouve localisée dans les organes sanguiformateurs, ou ses groupements forment le tissu hémohistioblastique.

5.1. Maturation de la lignée rouge (Erythropoïèse) :

L'érythrocyte naît dans la moelle osseuse (usine d'hématies), on parle de l'érythropoïèse :

La première cellule dérivée de la cellule souche pour cette lignée est la pro-érythroblaste. C'est une cellule encore volumineuse, dont le noyau rond contient une chromatine à trame régulière et un ou deux nucléoles clairs.

Au stade suivant, le pro-érythroblaste se divise en deux cellules filles, dont l'une redonne un pro-érythroblaste, permettant de conserver en érythroblaste basophile de grande taille qui par 3 mitoses successives donne l'érythroblaste basophile de petite taille puis l'érythroblaste polychromatophile et petit érythroblaste, acidophile.

Au cours de la maturation, qui dure exactement 3 jours, deux phénomènes majeurs vont marquer la formation de l'hématie ; ce sont la charge en hémoglobine du cytoplasme et l'expulsion du noyau :

1. La charge en hémoglobine se traduit par une acidophilie progressive du cytoplasme qui, de bleu, devient rose avec les colorants habituels.
2. L'expulsion du noyau se traduit par une condensation de la chromatine qui donne au noyau un aspect dense et foncé (pycnose) en même temps que son diamètre se réduit (**Georges et Gérard, 1967**).

5.2. L'érythrolyse (Hémolyse physiologique) :

La destruction des éléments âgés du sang est beaucoup moins nettement systématisée que la genèse de ces mêmes éléments .elle s'effectue dans tous les organes contenant du tissu réticulo-endothélial, ç-à-dire dans les organes hémopoïétiques essentiellement, mais aussi dans la foie.

Pour les hématies, c'est dans la moelle osseuse que s'effectue en majorité cette destruction, et accessoirement dans la rate (**Georges et Gérard, 1967**).

Les hématies arrivées au terme de leur vie sont porteuses d'anomalies de structure et morphologiques. Elles sont phagocytées dans le système réticuloendothélial. Le siège principal de la destruction érythrocytaire est la moelle osseuse (50% des hématies y sont détruites par le système des phagocytes mononuclées). Le reste est détruit dans le foie et la rate. L'hémolyse physiologique est extravasculaire (intra tissulaire), ce qui signifie que l'hémoglobine n'est pas libérée dans les vaisseaux. Les globules rouges sont phagocytés par les macrophages :

- les acides aminés de la globine sont récupérés par l'organisme.
- le fer est stocké dans les macrophages, puis réutilisé.
- le reste de l'hème, après perte du fer, est transformée en bilirubine libre ; liée à l'albumine elle passe dans le sang puis est transformée par le foie en bilirubine conjuguée et éliminée dans les selles sous forme de stercobilinogène. Normalement le taux de bilirubine totale sérique est de 10 $\mu\text{mol/l}$, formé presque uniquement de bilirubine libre et de traces de bilirubine conjuguée (**Aguilar, P. et Martinez Janvier. 2007**).

5.3. Métabolisme et enzymes érythrocytaires :

Le globule rouge est une cellule dont les besoins énergétiques sont faibles. Le rôle des enzymes est d'assurer les fonctions vitales du globule rouge (**Aguilar, P. et Martinez Janvier. 2007**) :

Maintenir l'intégrité de la membrane, pour assurer le maintien de l'équilibre ionique par fonctionnement des pompes Na^+ , K^+ , ATP ase qui nécessitent de l'ATP

Maintenir l Hb sous sa forme active, c'est-à-dire réduite (= fer a l'état divalent). Normalement, chez l'adulte, il y a <1 de méthémoglobine (= fer a l'état trivalent).

5.4. L'hémolyse des érythrocytes :

Il est important d'apprécier la résistance globulaire, puisque l'hémolyse modère est un phénomène normal, favorisé par les savons, par des lysolécithines, par les sels biliaires, ainsi que par l'erythrostatic dans la rate (**Marchal et Gérard, 1967**).

Contrairement à ce que l'on a pu supposer, les hématies sont très peu sensibles aux à coup circulatoires. Selon la comparaison de Ponder, (il est aussi difficile de le cogner que de cogner dans un sac de plumes).

L'hémolyse donne du fer et de la bilirubinoglobine ; celle-ci est scindée dans les foies en bilirubine excrétée par la bile, et en globine récupérable. (**Marchal et Gérard, 1967**)

L'étude classique de la résistance des globules rouges utilise les solutions hypotoniques. L'hémolyse commence pour les globules normaux dans une solution de chlorure de sodium à 4.5 ‰; elle est complète dans des solutions de 3.5‰.

Au cours des maladies hémolytiques, la fragilité globulaire se traduit par le début précoce et par l'allongement de la courbe d'hémolyse. D'autres techniques peuvent être utilisées dans les cas douteux : résistance mécanique, ou à 37°, ou à l'acide.

Nous ne rappelons que les principaux constituants des hématies : phosphatides, cholestérol, glutathion, urée, acide urique, et sur tous les ions cl et k. Les pertes de potassium comportent des conséquences pratiques dans le vieillissement du sang conservé pour les transfusions sanguines. (**Marchal et Gérard, 1967**)

6. Hémoglobine :

L'hémoglobine, pigment respiratoire du sang, permet de véhiculer des volumes considérables d'oxygène. Cette chromoprotéine, sous sa forme réduite, est l'hémoglobine ; et sous sa forme oxygénée, l'oxyhémoglobine ; leurs spectres d'absorption sont différents. C'est pigment tétra pyrrolique, résultant de la combinaison d'une protéine de groupe des histones, la globine avec un radical prosthétique ferrugineux l'hème. Le mode de liaison entre la globine porte et l'hème semble assez fragile. Une globine porte 4 groupements d'hème. Chaque molécule d'hème est formée par un atome de fer placé au centre d'un cercle porphyrine. Chaque molécule d'hémoglobine contient donc 4 atomes de fer, et chacun de ceux-ci fixe une molécule d'oxygène. A côté de sa fonction respiratoire, l'hémoglobine joue un rôle important dans l'équilibre acide-base, en particulier par le déplacement du cl vers le k globulaire, libérant du Na dans le plasma Les globules rouges

renferment normalement 1% de méthémoglobine, correspondant à « hémoglobine inactive » ainsi appelé parce que le fer se trouve à l'état pathologique, la teneur des hématies en méthémoglobine peut atteindre des valeurs élevées, soit par diverses intoxications, soit dans les cas de méthémoglobinémie congénitale et familiales. (**Georges ET Gérard, 1967**)

6.1. Affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène :

L'affinité de l'Hb pour l'oxygène est modifiée par des effecteurs qui permettent, in vivo, d'adapter sa libération en fonction des besoins : les protons H^+ , le CO_2 , les ions Cl^- , le 2,3-DPG, la température. L'augmentation de chacun de ces facteurs diminue l'affinité de l'Hb pour l'oxygène et déplace la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine (HbO_2) vers la droite et, par cet effet, favorise une meilleure oxygénation tissulaire (**Lian et al., 1971**).

L'équilibre hémoglobine-oxygène est affecté par le pH : plus le pH de la solution d'hémoglobine augmente, plus grand est le pourcentage de saturation pour l'oxygène. L'hémoglobine s'ionise en libérant un H^+ pour chaque oxygène selon l'équation : $HbH^+ + O_2 = HbO_2 + H^+$ (**Benesch et al., 1977**). Dans cette équation HbH^+ est la sous-unité protonisée de la molécule de désoxyhémoglobine. Cette réaction est réversible, l'augmentation de la concentration en ions hydrogène provoque un déplacement de l'équilibre vers la "gauche", diminuant le pourcentage de saturation. Leur diminution provoquera le déplacement de l'équilibre vers la "droite", augmentant le pourcentage de saturation. Cet effet du pH sur l'équilibre oxygène-hémoglobine est appelé "Effet Bohr" (**Bohr et al., 1904**).

1. Notion sur les plantes médicinales

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses". Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. (**Girre, L. et Magnin-Gonze, J. 1997**)

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**). On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg et Paris, 2006**).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**).

2. Présentation de la plante de *Matricaria Pubescens* (Desf.) :

La classification botanique de cette plante est décrite comme suit [(Judd et al., 2002) ; (Ozenda, 2004)].

Systématique et classification botanique	
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous Classe	<i>Gamopétales</i>
Ordre	<i>Asterale</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Matricaria</i>
Espèce	<i>Matricaria pubescens</i> (Desf.)
Noms Vernaculaires	
Arabe	Ouazouaza, Guertoufa.
Targui	Aynasnis.
Français	Camomille.

2.1 Généralité sur *Matricaria pubescens* (Desf.) :

Matricaria pubescens (Desf.) (**Figure 13**) est une espèce endémique, appartenant à la famille des Compositae (*Asteraceae*), très connue en Afrique du Nord, elle pousse en abondance dans les régions sahariennes (sud-ouest de l'Algérie). C'est une plante à tiges nombreuses couchées puis redressées et sous forme de touffes. Les feuilles découpées et velues sont d'un vert sombre. Involucres à bractées et ayant une marge membraneuse large, les fleurs toutes en tubes, de coloration jaune, sont groupées en capitules dont le diamètre est de 6 à 7 m. (**Ozenda, 2004**).

Elle pousse en abondance dans les régions sahariennes. Elle est très utilisée en médecine et préparation traditionnelles (**Zarrou, B. 2012**) Ses parties utilisées sont les feuilles, les racines et les fleurs (**Ould El Hadj Didi, M. et al., 2003**).



Figure (14) : La plante de *Matricaria Pubescens* (Desf.)



Figure (15) : La fleur de la plante *Matricaria Pubescens* (Desf.)

2.2. Description botanique de *Matricaria pubescens* (Desf.) :

Matricaria pubescens (Desf.) est une petite plante annuelle qui pousse juste après la pluie et ne dure pas très longtemps, de 10 à 20 cm de haut, atteignant rarement 40 cm Avec de nombreuses tiges couchées, qui se redressent. Elle se présente en petites touffes vert sombre aux tiges d'abord couchées puis se redressant à l'extrémité. Les feuilles profondément découpées, chaque lobe se terminant par une pointe blanche, sont légèrement charnues et ont entre 10 et 20 mm de long. Ses fleurs sont de couleur jaune vif groupées en têtes hémisphériques discoïdes. (Chahma, A. 2003)

La plante entière a un parfum très agréable. La floraison a lieu au printemps dans le nord du Sahara algérien, et à tout moment après la pluie dans le Sahara central algérien (Bounaga, S. A. et Brac, 1988).

2.3. Répartition géographique de *Matricaria Pubescens* (Desf.) :

Matricaria pubescens (Desf.) elle est largement distribuée dans tout le Sahara algérien. Au Sahara Occident, Maroc, Tunisie et la Libye. Elle est rencontrée dans les dépressions argilo sableuses et les lits d'oued [(Ould El Hadj Didi, M. et al., 2003) ; (Benhouhou, S. 2005)].

2.4. Usage traditionnelle médicinale de *Matricaria Pubescens* (Desf.) :

Matricaria pubescens (Desf.) est une plante médicinale très appréciée par les habitants des régions sahariennes. L'espèce est très connue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques (Chehema, A. 2006). Ils l'utilisent dans la plupart du temps sous forme de décoction, par voie orale ou locale, aussi mélangée au beurre local « d'han » [(Maiza, K. 2006) ; (Maiza, K. et Hammiche, 1993)]. Les tiges broyées et les feuilles sont utilisées comme un filtre pour le beurre des chèvres, ce qui donne un arôme agréable au beurre et aide à le conserver. Elle est utilisée pour traiter les maladies suivantes : les troubles gastro-intestinaux et du calcul biliaire, pour traiter aussi la dysménorrhée (tous les troubles des conditions liées à la menstruation) la toux et les maladies oculaires, les maladies rénales, les rhumatismes et les douleurs des maladies infectieuses et les malaises de l'abdomen, la sècheresse les maux liés à la dentition chez les enfants. Ainsi que les allergies et les morsures des scorpions [(Zarrou, B. 2012) ; (Ould El Hadj Didi, M. et al., 2003)].

Les utilisations de *Matricaria pubescens* (Desf.) ne semblent pas être limitées, cette espèce occupe une place de prestige dans la cuisine saharienne, en fait, la poudre végétale issue de ses parties aériennes, soigneusement sélectionnées et séchées est ajoutée à la soupe locale « l'hsa », elle lui donne une odeur agréable [(Maiza, K. 2006) ; (Maiza, K. et Hammiche, 1993)].

2.5. Etude chimique de *Matricaria Pubescens* (Desf.):

Des travaux réalisés sur l'espèce *Matricaria pubescens* ont permis d'isoler des métabolites secondaires divers tels que les flavonoïdes, amides, coumarine et terpènes (Boutaghane, N. et al., 2011). À l'exception des alcaloïdes. Les recherches phytochimiques ont permis de mettre en évidence, dans le genre *Matricaria* tous les composés caractéristique des *Astéracées*. C'est dernier, lors d'études chimio-systématiques, ont montré une grande variété de métabolites secondaires et des procédés biosynthétiques différents. On a ainsi pu mettre en évidence au cours d'étude différents types de composés chimiques (Guignard, J. L. et Cossen, L. et Henry, M. 1985) :

- a. Coumarines.
- b. Flavonoïdes.
- c. Amides.
- d. Terpènes.
- e. Sesquiterpènes lactones.
- f. Hétérosides.

a. Les coumarines (Makhloufi Ahmed, 2013) :

Les composés coumariniques rencontrés chez le genre *Matricaria* sont le plus souvent des composés simples comme c'est le cas de l'Herniarine et l'umbelliférone. (Tadrent, W. et al., 2014)

b. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ce sont des substances naturelles très répandues dans la famille des Astéracées. OÙ beaucoup de travaux ont été réalisés (Bruneton, J. 1993) chez le genre *Matricaria*. On trouve essentiellement des flavonoïdes glycosylés comme l'apigénine 7-glucoside et la lutéoline 7-glucoside.

c. Les amides

Les parties aériennes et les racines de l'espèce *Matricaria pubescens* (Desf.) présentent un gout piquant et poivré dû à des métabolites secondaires comportant un radical isobutylamide. Ces amides peuvent être aromatiques « fagaramide » ou aliphatiques « sanshool » (Greger, H. 1984).

d. Les terpènes

Constituant une vaste famille de composés naturels, ils sont classés chimiquement en fonction du nombre d'unités isopréniques $(C_5H_8)_n$ constituant leurs structures carbonées selon la règle élaborée initialement par Léopold Ruzicka (Makhloufi Ahmed, 2013).

e. Sesquiterpènes lactones

Ce sont des molécules en C_{15} souvent présentes sous formes de lactones qui peuvent conférer notamment aux *Astéracées* des propriétés allergisantes. Ces substances sont fragiles et, par distillation, peuvent se transformer en carbures plus ou moins insaturés par dégradation de la lactone initiale. Elles peuvent être présentes dans les huiles essentielles (Makhloufi Ahmed, 2013).

3. Présentation de la plante d'*Ammodaucus leucotrichus* :

D'après Quézel et Santa (1963) ; Guignard et Dupont (2007), la classification qu'occupe *A. leucotrichus* est la suivante :

Systématique et classification botanique	
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous Embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida, Rosopsida</i>
Sous Classe	<i>Cornidae, Astéridées</i>
Ordre	<i>Apiales</i>
Sous-ordre	<i>Aralianae</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Ammodaucus</i>
Espèce	<i>Ammodaucus leucotrichus</i>
Noms Vernaculaires	
Arabe	kammûn es-sofi, el nassoufa
Français	cumin velu, cumin du Sahara
Anglais	Hairy cumin.

3.1. Généralité sur *Ammodaucus leucotrichus* :

Ammodaucus leucotrichus Coss. Et Durieu, est nommé aussi cumin de Sahara (Trabut, 1935). C'est une plante à très forte odeur d'anis. L'*A. leucotrichus* pousse dans des pâturages désertiques et dans les sables [(Quézel et Santa, 1963) ; (Ozenda, P. 1977)].

AL provient de famille des *apiacées*, sont une famille de plante très importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 55 genres. C'est une famille d'arbustes, plantes sous-frutescentes ou herbacées, très variables, à feuilles en général très divisées.

Nom retenu : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Durieu [1859]



Figure (16) : La plante d'*Ammodaucus-leucotrichus*



Figure (17) : La fleur de la plante d'*Ammodaucus-leucotrichus*

3.2. Description botanique d'*Ammodaucus leucotrichus* :

Petite plante annuelle de 10-12 cm de haut, glabre à tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées à lanières étroites, un peu charnues, ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées (**Ozenda, P. 1977**), fleurs blanches de type 5. Etamines 5 alternipétales, toutes égales. Méricarpes allongés (6-9 x 4-5mm), à côtes secondaires couvertes de longs poils soyeux très denses, crépus, jaune roux à la base, puis blancs et longs de 8-10 mm.

Cette plante est très appréciée et ramassée, ce qui tend à la raréfier. C'est une plante à très forte odeur d'anis anis Il fleurit habituellement au Début du printemps (Février à Avril) (**Quezel et Santa, 1963**).

3.3. Répartition géographique d'*Ammodaucus leucotrichus* :

La distribution entière est basée au nord de l'Afrique (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, elle s'étend jusqu'à l'Egypte et l'Afrique tropicale) (**Beltran, E. et Tejera Candollea, 1983**).

Elle est assez commune dans tout le pâturage désertique (**Quezel et Santa, 1963**) :

- Secteurs du Sahara septentrional et occidental.
- Elle est rare dans le secteur du Sahara central.

3.4. Usage traditionnelle médicinale d'*Ammodaucus leucotrichus* :

A. leucotrichus est une plante (éphémère) utilisée en médecine traditionnelle par les populations indigènes. Ses principales utilisations sont contre : les maux d'estomac, l'indigestion, les diarrhées, les vomissements, les spasmes et coliques, les vers intestinaux et la constipation [(Merzouki et al., 2000) ; (Didi et al., 2003) ; (Fakchich et Elachouri, 2014)].

Le genre *Ammodaucus* est parmi les genres les plus utilisés en pharmacopée traditionnelle (Fleurntin et al., 2002). Ses principales utilisations sont contre : les maux d'estomac, l'indigestion, les diarrhées, les vomissements, les spasmes et coliques, les vers intestinaux et la constipation [(Merzouki et al., 2000) ; (Didi et al., 2003) ; (Fakchich et Elachouri, 2014)].

La plante est aussi utilisée pour le traitement des symptômes d'allergie [(Didi et al., 2003) ; (Hammiche et Maiza, 2006)]. Elle est utilisée aussi contre la toux, comme emménagogue et contre l'anorexie (Hammiche et Maiza, 2006). Sous forme d'infusion, les fruits d'*A. leucotrichus* sont utilisés pour le traitement des palpitations cardiaques (Jouad et al., 2001). Une étude récente faite par (Kabbaj et al., 2012) rapporte que quelques populations indigènes, au Maroc, utilisent les fruits d'*A. Leucotrichus* pour le traitement du cancer des poumons sous forme de poudre mélangée avec du miel et administrée par voie orale.

3.5. Etude chimique d'*Ammodaucus leucotrichus* :

L'étude de la plante d'*Ammodaucus leucotrichus* n'a fait l'objet que d'une seule étude chimique récente, celle-ci a porté sur la séparation et l'identification des substances pouvant être obtenues à partir de la plante (fruits) séchée par hydrodistillation. On y trouve entre autres, les monoterpènes α -pinène, β -pinène, myrcène, limonène et des sesquiterpènes ainsi que d'autres composants (Libbey, L, 1991).

L'huile essentielle des fruits de l'espèce d'*Ammodaucus leucotrichus* subsp. *nanocarpus* se compose de (94.7-94.9%) de monoterpènes, (4.6-5.0 %) de sesquiterpènes et (0.3-0.5 %) de différents composants.

La majorité de ces constituants sont le β -pinène (22.2 %), et camphre (11.7%), Le tableau montre d'autres composants et leur % :

Nom du Composé	Teneur en %	Références
B-pinène	22.2	(Davies, N. W., J. Chromatogr. A, 1990) (Muckensturm, B et al., 1995)
Camphre	11.7	(Muckensturm, B. et al., 1995) (Dev, S. et al., 1986) (Joulain, D. König, A. W., 1998)
α -pinène	5.5	(Davies, N. W., J. Chromatogr. A, 1990) (Muckensturm, B et al., 1995)
Camphène	3.8	(Davies, N. W., J. Chromatogr. A, 1990) (Muckensturm, B et al., 1995)
Myrcène	5.4	(Davies, N. W., J. Chromatogr. A, 1990) (Muckensturm, B et al., 1995)
Limonène	4.0	(Davies, N. W., J. Chromatogr. A, 1990) (Muckensturm, B et al., 1995)
γ -terpinène	5.6	(Davies, N. W., J. Chromatogr. A, 1990) (Muckensturm, B et al., 1995)
Acétate de bornyle	5.0	(Davies, N. W., J. Chromatogr. A, 1990) (Muckensturm, B et al., 1995)
δ -cadinène	2.1	(Muckensturm, B et al., 1995) (Dev, S., et al., 1986) (Joulain, D., König, A. W., 1998)

Tableau (1) : % des composés chimiques d'*Ammodaucus leucotrichus*.

4. Présentation de la plante d'*Artemisia campestris* :

Selon Caratini (1971), la plante *Artemisia campestris* est classée dans :

Systématique et classification botanique	
Embranchement	<i>Tracheophyta</i>
Sous Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia campestris</i>
Noms Vernaculaires	
Arabe	التقفنت
Targui	Degouft, Tegouft
Français	Armoise de champs
Anglais	Field wormwood

4.1. Généralité sur la plante d'*Artemisia campestris* :

Artemisia campestris est une biennale à faible croissance (à 30 cm) à racine pivotante ou pérenne. Les feuilles basales sont 2,5-10 cm de long, 2-3 fois divisés en divisions essentiellement linéaires, et entassés dans des rosettes. Les feuilles et les tiges sont couvertes de poils fins et soyeux (Carlson, M.L. 1998). L'inflorescence est étroite, relativement grandes têtes de fleurs. Les fleurs extérieures sont pistillate et fertile, fleurs de disque sont stériles, et akènes et réceptacle sont glabres. (Gamon, J. 1989)

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Mirjalili et al., 2007).



Figure (18) : La plante d'*Artemisia campestris*
par Glen Lee



Figure (19) : La fleur d'*Artemisia campestris*
par Glen Lee

4.2. Description botanique d'*Artemisia campestris* :

Artemisia campestris est un arbuste aromatique à tiges robustes, d'une hauteur de 30 à 80 cm. Cette plante possède des capitules très petits, étroits (1 à 1,5 mm) ovoïdes ou coniques, à involucre scarieux, ne contient que 3 à 8 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge, et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. Les feuilles d'*Artemisia campestris* sont glabres de couleur verte foncée, les inférieures dipinnatiséquées, les supérieures pinnatiséquées, les basales pétiolées et auriculées, les tiges sont ligneuses à la base striée [(David Hervé, 1994) ; (Ozenda, 1983) ; (Quezel et Santa, 1962)].

4.3. Répartition géographique d'*Artemisia campestris* :

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* sont des arbustes aromatiques, qui poussent de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya (Vernin et al., 1995), dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud, d'après (Kyeong, 2007), *Artemisia campestris* est originaire de l'Asie.

4.4. Usage traditionnelle médicinale d'*Artemisia campestris* :

Artemisia campestris est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies : En usage local *Artemisia campestris* est utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères et les douleurs menstruelles (Dob et al., 2005). Elle est également utilisée dans le traitement de diabète (Sefi et al., 2010).

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpents, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie, le rhumatisme, elle est utilisée également pour traiter les infections urinaires, la fièvre et la toux (Ben Sassi et al., 2007).

Selon (Saoudi et al., 2010) la consommation journalière d'une décoction préparée à partir des tiges et feuilles d'*A. campestris* permet de réduire les symptômes digestifs.

4.5. Etude chimique d'*Artemisia campestris* :

De nombreuses études chimiques ont révélé que la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est riche en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles [(Joao et al., 1998) ; (Juteau et al., 2002)].

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chimiotype considéré (Bruneton, 1999), elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, heures de soleil, etc.), et selon la phase de développement de la plante (Jerkovic et al., 2003).

Plusieurs études [(Akrouf et al., 2001) ; (Juteau et al., 2002)] ont rapporté la composition des huiles essentielles d'*Artemisia campestris*. 51 composés et caractérisés, les plus abondants sont : γ -terpinène, capillène, 1-phenyl-2,4-pentadiyne, spathulenol, méthyleugenol, p-cymène et β -pinène.

D'après (Akrouf et al., 2001) les constituants les plus abondants d'une espèce d'*Artemisia campestris* sont : β -pinène (24,2-27,9 %), p-cymène (17.4–22.3%) et α -pinène (4.1–11.0%), ces constituants représentent plus de 45 % de l'huile totale.

Les feuilles d'*Artemisia campestris* contiennent aussi des alcaloïdes, des saponines. (Naili et al., 2010).

5. Présentation de la plante *Thymus vulgaris* L :

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Morales, 2002) :

Systématique et classification botanique	
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Labiales</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.
Noms Vernaculaires	
Arabe	الزعتر; zîtra
Français	Farigoule, Thym commun
Anglais	Thyme

5.1. Généralité sur la plante *Thymus vulgaris* L :

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des *labiées*, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris* L. localement connu zaatar. En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre (thym et thyme respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (Amiot, 2005).

Le nom *Thymus* dérive du mot grec « thymos » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001).



Figure (20) : La plante de *Thymus vulgaris* par Frank Fischbach



Figure (21) : La fleur de la plante *Thymus vulgaris*

5.2. Description botanique de *Thymus vulgaris* L :

Thymus vulgaris L est une plante vivace avec un boisé, racine fibreuse. Les tiges sont nombreux, rond, dur, ramifié, et habituellement de 4 à 8 pouces de haut, lorsque de la plus forte croissance atteignant à peine un pied de hauteur. Les feuilles sont petites, seulement environ 1/8 pouce de long et 1/16 pouce de large, étroite et elliptique, gris verdâtre en couleur, reflexed en marge, et de mettre en paires sur de très petits pieds-tiges. Les fleurs se terminent les branches en verticilles. Le calice est tubulaire, striée, fermé à la bouche avec de petits poils et divisé en deux lèvres, la coupe la plus élevée en trois dents et la partie inférieure en deux. *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été au moins aussi étudié que son polymorphisme chimique [(Bruneton, 1999) ; (Morales, 2002)]. La corolle se compose d'un tube de la longueur du calice, répandant au sommet en deux lèvres d'une couleur pourpre pâle, la lèvre supérieure dressée ou se retourna et entaillé à la fin, la lèvre inférieure plus longue et divisée en trois segments (Quezel et Santana, 1963). Les graines sont arrondies et très petite, environ 170.000 à l'once, et 24 OZ. Le quart : ils conservent leur pouvoir germinatif pendant trois ans. La plante a une odeur aromatique agréable et un goût chaud piquant. Le parfum de ses feuilles est dû à une huile essentielle, ce qui lui donne sa valeur aromatisant à des fins culinaires, et est aussi la source de ses propriétés médicinales. Il est dans la fleur de mai à Août.

5.3. Répartition géographique de *Thymus vulgaris* L :

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes (İzcan et Chalchat, 2004) et aussi autochtone du sud d'Europe (Takeuchi et al., 2004), se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme *la lavande*, *le romarin*, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (Kaloustian et al., 2003). Plus précisément, *Le thym* est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (Kabouche et al., 2005). *Le thym commun* préfère un sol légèrement acide, bien drainé et rocailleux (calcaire), en plein soleil et au sec, mais la plante se développe également sur un sol alcalin filtrant, léger ou compact (d'argile et de limon) ou très poreux (sableux), un peu humide et frais. La capacité de cette plante à résister à de très forte chaleur provient de son huile essentielle qui est produite la nuit et s'évapore la journée ; c'est par cette action que la chaleur sera consommée.

5.4. Usage traditionnelle médicinale de *Thymus vulgaris* L :

Thymus vulgaris est une des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan et al., 2006). De plus son huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Jordán et al., 2006).

L'épice *Thymus vulgaris* est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, volailles, des potages et des légumes (Özcan et Chalchat, 2004). La feuille et la sommité fleurie de *Thymus vulgaris* sont traditionnellement utilisées par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et de la bronchite (Bruneton, 1999). Sa feuille est énumérée dans la pharmacopée de fines herbes allemande et britannique a été employée en tant que Branche spasmolytique, expectorant et antibactérien. On dit que la tisane des feuille de *Thymus vulgaris* favorise le repos et le sommeil (Kitajima et al., 2004).

En usage local, elles sont traditionnellement utilisées en cas de nez bouché, de rhume, pour le traitement des petites plaies après lavage abondant, pour soulager les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales, en bain de bouche pour l'hygiène buccale [(Poletti, 1988) ; (Brunton, 1999)] ainsi comme additif de bain préparé par décoction qui stimule l'écoulement de sang vers la surface du corps humain, soulageant de ce fait la dépression nerveuse (Özcan et Chalchat, 2004).

L'huile essentielle de cette plante entre dans les formulations de diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires, préparation pour inhalation **(Bruneton, 1999)**.

5.5. Etude chimique de *Thymus vulgaris* L :

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intra spécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimiques **[(Balladin et Headley, 1999) ; (Amiot, 2005)]**.

Dans le teneur de 1,5 à 4% diverses compositions ont été décrites : ainsi, le thymol semble être le composé majeur des HE de plusieurs espèces de thym. **[(Guillén et Manzanos, 1998) ; (Balladin et Headley, 1999) ; (Hudaib et al., 2002) ; (Bouhdid et al., 2006)]**. le carvacrol (teneur jusqu'à 85 %), le p-cymène (jusqu'à 45 %), le linalol, l' α -terpinéol, le camphre, le mélange thymol (jusqu'à 65 %) + carvacrol (5 à 10 %), le mélange thymol (environ 35 %) + α -terpinéol (environ 18 %) + p-cymène (environ 18 %), le mélange géraniol + acétate de géranyle (jusqu'à 90 %), le mélange linalol + acétate de linalyle (jusqu'à 95 %), le mélange α -terpinéol + acétate d'áterpényle (jusqu'à 96 %), le mélange hydrate de trans-sabinène (jusqu'à 56 %) + terpinéol-4 (jusqu'à 43 %), le mélange 1,8-cinéole + camphre ainsi que le mélange trans-thujanol + terpinéol-4 **[(Teuscher et al., 2005) ; (Bruneton, 1999)]**.

6. Présentation de la plante *Lavandula dentata* :

Cette lavande fut récoltée en Espagne à la fin du XVIII^e siècle par Joseph Pitton de Tournefort.

Place dans la systématique :

Systématique et classification botanique	
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula dentata</i>
Noms Vernaculaires	
Arabe	Duzan, Helhal, Lizer
Français	Lavande Dentée
Anglais	French Lavender

6.1. Généralité sur la plante de *Lavandula dentata* :

Lavandula dentata, la lavande dentée, est un arbrisseau de la famille des *lamiacées*. Bien qu'elle soit appelée lavande française dans de nombreux pays, *Lavandula dentata* est très peu présente naturellement en France, elle est surtout distribuée en Espagne, Italie et sur les îles méditerranéennes.

La lavande dentée est une belle plante aromatique, très agréablement parfumée, mais peu rustique. Elle est de culture facile, une fois protégée du gel. (López González, et Ginés, A. 2007).



Figure (22) : La plante de *Lavandula dentata*



Figure (23) : La fleur de la plante de *Lavandula dentata*

6.2. Description botanique de *Lavandula dentata* :

Lavandula dentata est une lavande qui se développe de 0.60 à 1 m en tous sens. Elle se présente sous forme d'un buisson bas lignifié et très ramifié. Les feuilles sont allongées de 2 à 4 cm, opposées et de couleur vert argenté. Elles sont caractérisées par de petits lobes arrondis sur leur marge, ce qui la rend très facile à différencier des autres espèces de lavande. Le feuillage dégage une odeur très délicate, intermédiaire entre la lavande ordinaire et le romarin. (Bayer, E. et Buttler, Finkenzeller, G. 1989).

Les fleurs apparaissent à partir du milieu de l'été, la floraison pouvant se poursuivre pendant l'hiver dans les régions les plus douces. Les fleurs violettes, sont très petites, regroupées en épis dense portés par long pédoncule. Les épis sont couronnés de quelques bractées pétaloïdes plus développées. Chaque fleur peut produire deux petites graines noires. Elles se détachent de l'épi à partir du mois d'aout (López González, et Ginés, A. 2007).

Lavandula dentata est une plante mellifère qui attire et nourrit de nombreux insectes. Elle contient de l'huile essentielle.

6.3. Répartition géographique de *Lavandula dentata* :

Anciennement, les lavandes poussaient en Provence et dans quelques pays du bassin méditerranéen, Les lavandes dentée poussent à une altitude de 500 à 1 700 m. sur les versants ensoleillés des

montagnes. La qualité *des lavandes* est réputée augmenter avec l'altitude. Elle est produite notamment à Sault, et elle est la principale activité agricole de cette zone du Vaucluse, mais on la retrouve également en Drôme provençale où elle est très bien représentée (**López González, et Ginés, A. 2007**).

6.4. Usage traditionnelle médicinale de *Lavandula dentata* :

Ce n'est pas par hasard que l'on dit communément « si tu ne sais pas comment procéder, adresses toi à la lavande ». En effet, cette plante possède des propriétés thérapeutiques remarquables ; La décoction des feuilles est utilisée dans le cas d'infections intestinales, de gastralgies ; mais c'est surtout pour ses propriétés antitussives qu'il est largement recommandé (**Nysten, P. H. 1834**). Les fleurs en décoction apaisent l'hystérie, ingérées telles quelles, elles seraient également efficaces pour calmer la toux et l'asthme. L'huile essentielle est un précieux remède des premiers secours, elle est antiseptique, accélère la guérison des brûlures et des plaies et calme les inflammations dues aux piqûres d'insectes. Ils l'utilisent pour traiter la gale et les poux. En massage, elle est appliquée sur la tête pour calmer ses maux, pour se détendre, tonifier le système nerveux et retrouver le sommeil (**Hurtel, J. 2009**).

TOXICITE :

La lavande est dans tous les cas déconseillée aux femmes enceintes ou allaitantes, car elle fait tarir la lactation. La substance majoritairement toxique est le linalol. La plupart des Lamiacées sont excitantes voire convulsivantes par utilisation abusive (présence de menthol) (**Gauthier, O. Roux, D. 2007**). Les huiles essentielles sont des concentrées de principes actifs, c'est ce qui leur donne leur efficacité mais aussi leur toxicité si elles sont utilisées à mauvais escient ou en surdosage. A forte dose, l'essence de lavande est stupéfiante (**Durafford, C. et al., 2002**).

Certaines personnes sont allergiques aux *lavandes* (crise d'asthme, eczéma). (**Durafford, C. et al., 2002**).

6.5. Etude chimique de *Lavandula dentata* :

La variété officinale de l'huile essentielle de *lavande* contient de linalol, d'acétate de linalyle, de limonène, de cinéol (*eucalyptus*), de camphre, d'alpha terpinol, de lavandulol. Egalement, elle contient de l'eugénol et du caryophyllène. Les inflorescences de *lavande* contiennent (**Shaw, D. et al., 1991**).

D'autres composés pharmaco-logiquement actifs : des flavonoïdes et des acides phénols (rosmorinique, caféique) (**Bédry, R. et Jouglard, J. 1997**).

***Matériel et
Méthode***

Notre objectif consiste à étudier l'effet cytotoxique de quelques huiles essentielles très répandues dans le domaine alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Cette étude est portée sur l'évaluation de l'effet hémolytique des huiles sur les érythrocytes. Dans un deuxième temps, nous avons quantifié le taux des protéines des cellules traitées par l'huile et non traitées.

1. Etude de la cytotoxicité de l'huile essentielle vis-à-vis des érythrocytes :

1.1. Huiles essentielles utilisées :

Nous avons utilisé cinq huiles essentielles :

1. *Artemisia campestris*.
2. *Ammodaucus leucotrichus*.
3. *Lavandula dentata*.
4. *Matricaria pubescens*.
5. *Thymus vulgaris*.

Identification de la plante :

Notre plante est identifiée par Dr. Tayeb Si Tayeb botaniste au niveau du laboratoire de bio toxicologie pharmacognosie et valorisation biologique des plantes (LBPVBP) de Saida (Algérie).

Choix de la plante :

Le choix de notre plante est basé sur :

- ❖ Le manque des travaux de recherche sur les tests de toxicité.
- ❖ Leur utilisation en plusieurs pharmacopées traditionnelles et surtout l'Algérienne pour plusieurs traitements.
- ❖ Une recherche bibliographique avancée.

Extraction :

L'hydrodistillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles des plantes. Une quantité de 300 g de matériel végétal sec (partie aérienne : feuilles) baigne dans 1500 ml d'eau distillée dans un ballon relié à un réfrigérant. La vapeur d'eau produite entraîne les constituants volatils, après refroidissement et condensation dans le réfrigérant, qui sont recueillis dans le récipient de recette.

1.2. Globules rouges :

Les tests sur la cytotoxicité sélective de nos huiles essentielles, ont été effectués sur le globule rouge humain, (modèle universel de cellules animales), provenant d'un donneur unique sain. Aussi, les donneurs du sang ont été sélectionnés pour un seul groupage sanguin O⁺

1.3. Méthodes de préparation :

1.3.1. Préparation de la suspension érythrocytaire :

Du sang fraîchement prélevé sur tube hépariné est centrifugé à 4000 tours/minutes pendant 5 minutes. Après élimination du surnageant, le culot est lavé 2 fois avec la solution de lavage de chlorure de magnésium MgCl₂ (2mM) contenant 150mM de NaCl, puis resuspendu à nouveau dans le tampon phosphate salé de sodium (PBS) 100mM, pH 7,4 contenant aussi 150mM de NaCl (Boucherit atmani *et al.*,2007).

1.3.2. Préparation de solution de lavage :

La solution de lavage consiste à préparer une solution de MgCl₂ à 2mM contenant 150mM de NaCl.

1.3.3. Solution tampon :

Pour préparer 1 litre de PBS à 100mM, il suffit de mélanger une quantité suffisante pour 20mM de KH₂PO₄ et une quantité suffisante pour 80mM de Na₂HPO₄ additionnée par 150mM de NaCl. Compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.

1.4. Evaluation de la cytotoxicité des huiles essentielles :

1.4.1. Mode opératoire :

Les globules rouges sont suspendus dans du tampon PBS pH 7,4 100mM, à raison de 4000 cellules/ml. La suspension érythrocytaire est incubée à 37°C sous agitation continue pendant 120 minutes, dès l'addition de l'huile des concentrations finales différentes. Des prélèvements de 50µl à partir de la solution réactionnelle sont effectués à intervalles réguliers auxquels nous avons ajouté 2ml d'une solution de lavage glacée (NaCl 150mM, MgCl₂ 2mM). Après centrifugation à 4000 tours/minutes pendant 5 minutes, nous avons récupéré le surnageant dans lequel on dose l'hémoglobine par la densité optique à une longueur d'onde de 548nm. Dans ce projet, nous avons examiné la cytotoxicité de ces huiles sur les globules rouges humains.

1^{er} étape :

Nous avons préparé sept (7) concentrations de chaque huile essentielle (**µl/ml**) dans des tubes eppendorfs contenant DMSO (**µl/ml**) et PBS (**mg/ml**).

Tableau 2 : Les différentes concentrations utilisées pour le test de la cytotoxicité.

	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇
Huile essentielle	50 µl	25 µl	12.5µl	6.25µl	3.125µl	1.56µl	0.78µl
Suspension érythrocytaire	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl	50µl
DMSO	16.67µl	8.33µl	4.17µl	2.08µl	1.04µl	0.52µl	0.26µl
PBS	883.33µl	916.67µl	933.33 µl	941.67µl	945.83µl	947.92µl	948.96µl
Totale	1ml	1 ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml

PBS : Tampon phosphate salin ; **DMSO :** diméthylsulfoxyde C₂H₆OS.

2^{ème} étape :

Nous avons préparé sept (7) tubes sec contiennent de 2 ml MgCl₂ dans un bain d'eau glacée.

3^{ém} étape :

Nous avons ajouté la suspension érythrocytaire (50 µl) dans les différentes concentrations à des intervalles de temps (0min, 5min, 10min, 20min, 30min, 60min, 90min, 120min), puis 50µl de chaque concentration ont été prélevée vers des tube de MgCl₂ .les tubes sont remonté dans bain d'eau glacée puis centrifugés à 4000tours /minutes pendant 5 min et après nous avons lit l'absorbance à 548 nm



Figure (24) : Représente Spectrophotomètre visible

2. Dosage de protéines totales :

Il est nécessaire de connaître la concentration totale de l'ensemble des différentes protéines d'une solution érythrocytaire pour établir une relation entre l'effet des HE et les protéines érythrocytaire. C'est pourquoi nous utilisons la méthode au Blue Brillan toomassie.

Cette méthode a été employée par Bradford (1976) pour la détermination des protéines dans un milieu biologiques. Donc, il a utilisé le Blue Brillant G de Coomassie présente une absorbance maximale est a 465 nm mais lorsqu'il se lie à une protéine, l'absorbance maximale est déplacé à 595 nm. La méthode est environ trois fois plus sensible que les autres méthodes, peut détecte des protéines à des concentrations de l'ordre de 40mg/l (albumine urinaire) (Métais et *al.*, 1990).

2.1. Préparation d'étalon :

La méthode est habituellement étalonnée avec de l'albumine bovine. Pour cela, nous avons préparé cinq (05) tubes contiennent des concentrations croissantes de 0.1 mg/ml jusqu'à 2mg/ml.

2.2. Préparation de réactif :

Le colorant (Blue Brillant G de coomassie), dissout dans l'acide phosphorique (1.6 mol/l) et l'éthanol (0.8 mol/l)



Figure (25) : Préparation du Réactif

2.3. Préparation des échantillons :

Sept (07) tubes, chaque tube contient des différentes concentrations d'HE (0.78 mg/ml jusqu'à 50mg/ml), DMSO (16.67 ; 8.33 ; 4.17 ; 2.08 ; 1.04 ; 0.52 ; 0.26), et nous avons complété jusqu'à 1ml avec PBS. Puis nous avons ajouté le même volume de la suspension érythrocytaire (50 μ l) pour une incubation dans un bain marie à 37°C pendant 120 min.

2.4. Mode opératoire :

A des concentrations finales croissantes d'albumine sérique bovine (BSA) (0,1 à 2 mg/ml) et à des volumes appropriés de surnageant contenant les protéines recherchées, est rajouté à chacune 3 ml de réactif de Coomassie. Après agitation et incubation pendant 10 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances des mélanges sont déterminées à 595 nm. (Olfa Houta *et al.*, 2012)

2.5. Expression des résultats :

Les concentrations des protéines sont calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage tracé en fonction des concentrations de BSA et des absorbances relatives. Elles sont exprimées en mg protéines par ml.

Résultats et Discussion

1. Introduction

Les huiles essentielles sont très utilisées en industrie agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Plusieurs recherches ont montré leurs activités biologiques, mais peu d'études qui sont intéressées par leur cytotoxicité. Dans ce cadre, notre travail a porté sur l'évaluation de la cytotoxicité des HEs vis-à-vis du globule rouge humain. Lorsque la membrane plasmique du globule rouge est altérée par l'action des HEs, il s'ensuit une lyse qui se traduit par la libération de l'hémoglobine chez le globule rouge, c'est pourquoi nous avons dosé le taux d'hémoglobine extracellulaire après l'addition des différentes concentrations des HEs. Nous avons utilisé cinq huiles essentielles des plantes médicinales suivantes : *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris*.

2. Evaluation de la cytotoxicité des huiles essentielles vis-à-vis des érythrocytes :

La figure (26) représente l'effet des huiles essentielles : *Matricaria Pubescens*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris*, à concentration (50 mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), représentent l'effet des HEs à 50 mg/ml pendant 120 min.

Concernant la courbe (a) qui représente l'effet d'HE *Matricaria Pubescens* (Desf.), à une concentration de 50 mg/ml. Nous remarquons que les érythrocytes perdent près de 86.93 % de leur hémoglobine dès le premier temps d'incubation c-à-dire après le premier contact d'HE avec les globules rouge. Un taux autour de 88.94 % au bout de 120 minutes a été achevé.

La courbe (b) qui représente l'effet d'HE *Lavandula dentata* à une concentration de 50 mg/ml. Nous remarquons que les érythrocytes perdent près de 21.25 % de leur hémoglobine dès le premier temps d'incubation c-à-dire après le premier contact d'HE avec les globules rouge. Un taux autour de 86.5% au bout de 120 minutes a été achevé.

Concernant la courbe (c) qui représente l'effet d'HE *Ammodaucus leucotrichus*, à une concentration de 50 mg/ml. Nous remarquons que les érythrocytes perdent près de 36.68 % de leur hémoglobine dès le premier temps d'incubation c-à-dire après le premier contact d'HE avec les globules rouge. Un taux autour de 67.33% au bout de 120 minutes a été achevé.

La courbe (d) qui représente l'effet d'HE *Thymus vulgaris* à une concentration de 50 mg/ml. Nous remarquons que les érythrocytes perdent près de 62.34 % de leur hémoglobine dès le premier temps

d'incubation c-à-dire après le premier contact d'HE avec les globules rouge. Un taux autour de 86.56 % au bout de 120 minutes a été achevé.

Concernant la courbe (e) qui représente l'effet d'HE *Artemisia campestris*, à une concentration de 50 mg/ml. Nous remarquons que les érythrocytes perdent près de 65.82 % de leur hémoglobine dès le premier temps d'incubation c-à-dire après le premier contact d'HE avec les globules rouge. Un taux autour de 66.83% au bout de 120 minutes a été achevé.

A la lumière de ces résultats, et sur notre observation qui concerne la formation de caillot ou agrégats dans les premiers temps, nous concluons que les HEs des *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* commencent à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport les premières minutes d'incubation. Sachant que les compositions phénoliques, aldéhydes et alcools favorisant la lyse des globules rouges, nous pouvons dire que l'activité cytotoxique des huiles essentielles est le plus souvent en raison de la présence de ces composées (Sacchetti et al., 2005).

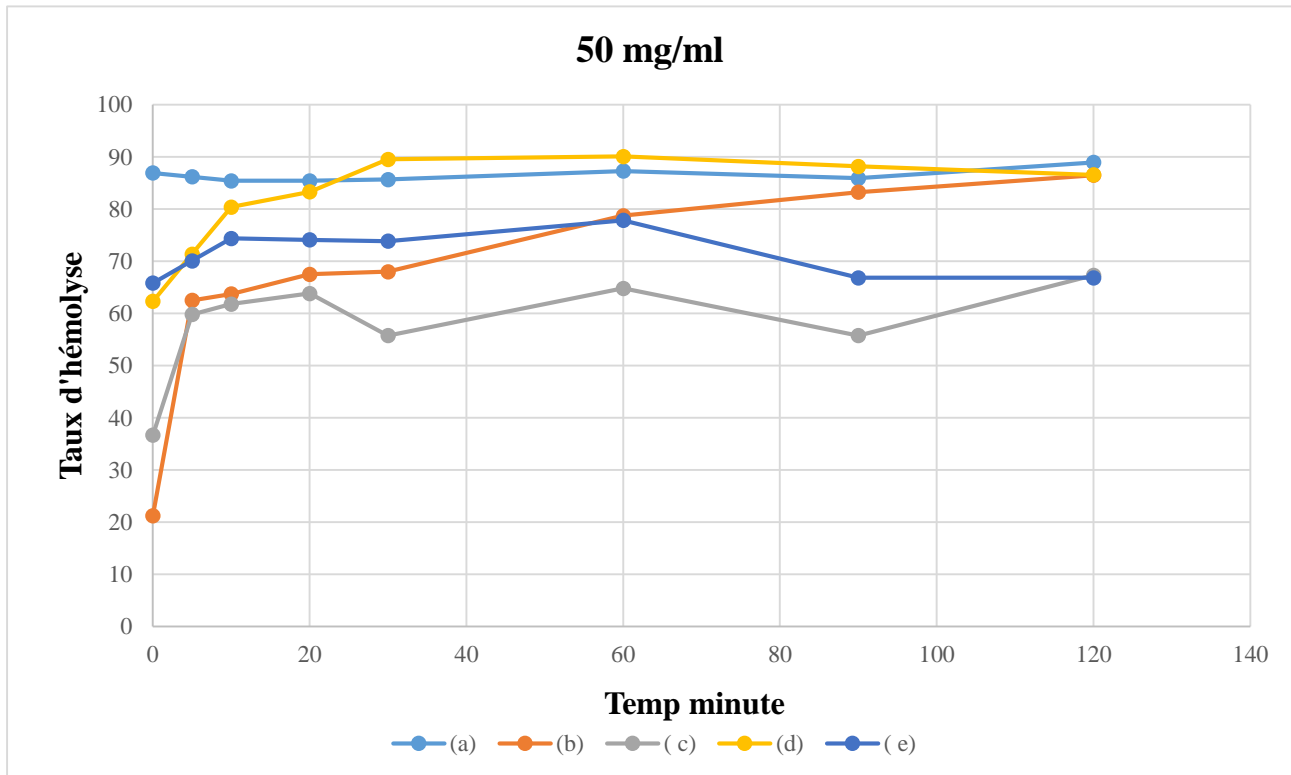


Figure (26) : représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 50 mg/ml.

La figure (27) représente l'effet de l'huile essentielle de *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* à concentrations (25 mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), représentent l'effet des HEs à 25 mg/ml pendant 120 min .

La courbe (a) représente l'effet d'HE de *Matricaria Pubescens* à une concentration de 25 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 83.91 % de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 89.44 % au bout de 120 minutes d'incubation.

Concernant la courbe (b) représente l'effet d'HE de *Lavandula dentata* à une concentration de 25 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 33.5 % de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 75.25% au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (c) représente l'effet d'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* à une concentration de 25 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 30.15 % de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 54.77% au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (d) représente l'effet d'HE de *Thymus vulgaris* à une concentration de 25 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 70.7 % de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 89.06 % au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (e) représente l'effet d'HE d'*Artemisia campestris* à une concentration de 25 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 69.34 % de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux est resté presque stable 68.84% au bout de 120 minutes d'incubation.

A la lumière de ces résultats, nous concluons que les HEs de *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* commencent à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport aux premières 90 minutes d'incubation. Sachant que les compositions phénoliques, aldéhydes et alcools favorisant la lyse des globules rouges, nous pouvons dire que l'activité cytotoxique des huiles essentielles est le plus souvent en raison de la présence de ces composés (Sacchetti et al., 2005).

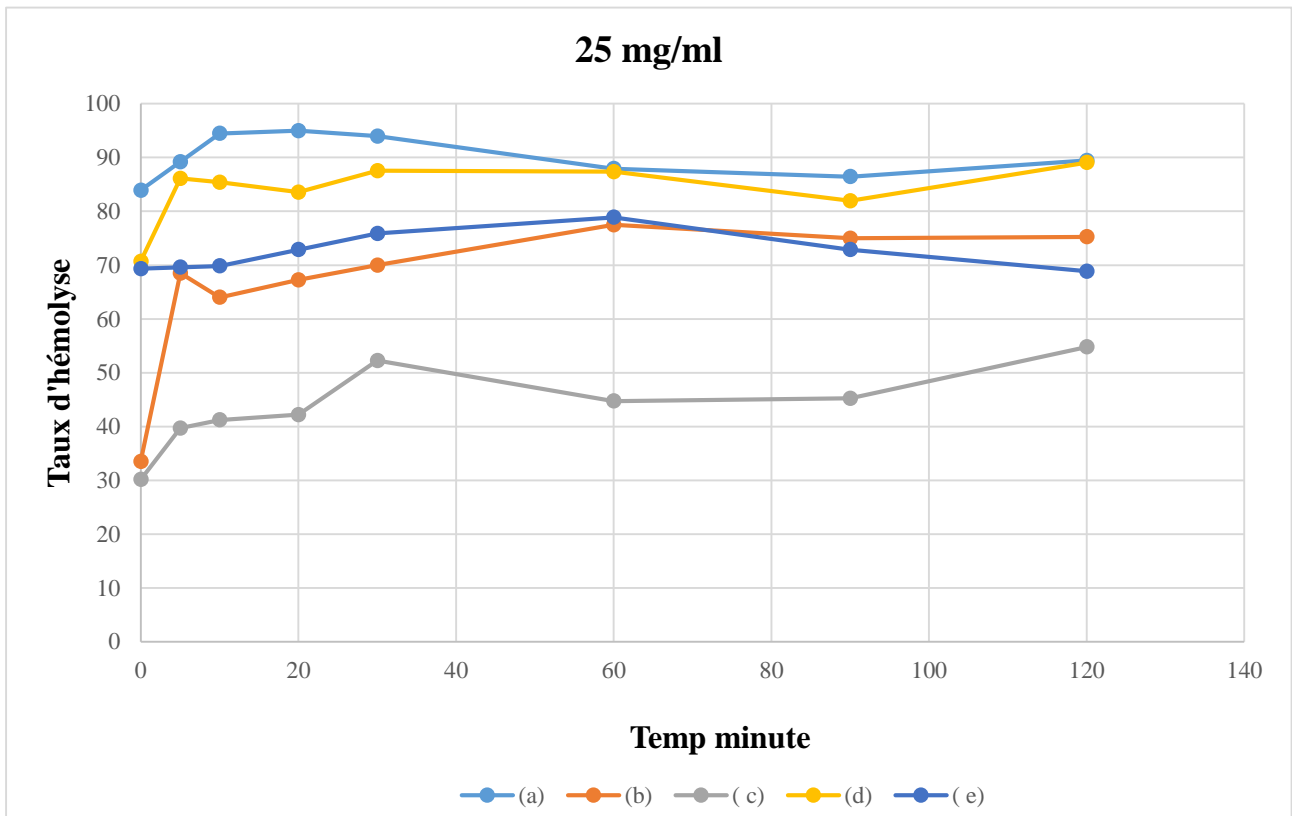


Figure (27) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 25 mg/ml.

La figure (28) représente l'effet de l'huile essentielle de *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* à concentrations (12.5 mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), représentent l'effet des HEs à 12.5 mg/ml pendant 120 min.

La courbe (a) représente l'effet d'HE de *Matricaria Pubescens* à une concentration de 12.5 mg/ml. Il apparait que l'hémolyse est estimée autour de 90.45 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 91.95 % au bout de 120 minutes.

La courbe (b) qui définit l'effet d'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* à une concentration de 12.5 mg/ml. Il apparait que l'hémolyse est estimée autour de 30.15% après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 94.97 % au bout de 120 minutes.

La courbe (c) qui définit l'effet d'HE de *Lavandula dentata* à une concentration de 12.5 mg/ml. Il apparait que l'hémolyse est estimée autour de 50% après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 74.75 % au bout de 120 minutes.

La courbe (d) qui définit l'effet d'HE de *thymus vulgaris* à une concentration de 12.5 mg/ml. Il apparait que l'hémolyse est estimée autour de 69.13 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 86.31 % au bout de 120 minutes.

La courbe (e) qui définit l'effet d'HE d'*Artemisia campestris* à une concentration de 12.5 mg/ml. Il apparait que l'hémolyse est estimée autour de 73.36% après 5 minutes d'incubation. Ce taux diminué jusqu'à 61.80 % au bout de 120 minutes.

A la lumière de ces résultats, nous concluons que les HEs *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* commencent à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport aux premières 90 minutes d'incubation.

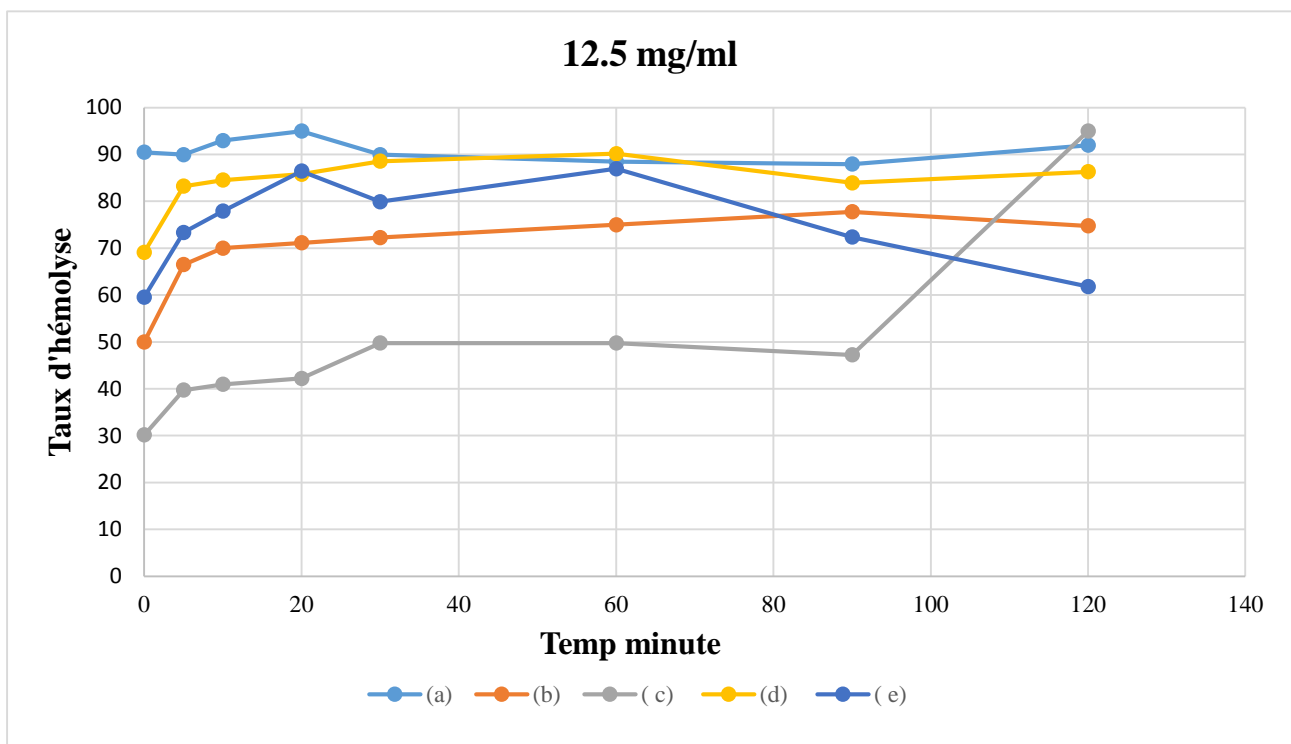


Figure (28) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 12.5 mg/ml.

La figure (29) représente l'effet de l'huile essentielle de *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* à concentrations (6.25 mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), représentent l'effet des HEs à 6.25 mg/ml pendant 120 min.

La courbe (a) représente l'effet d'HE de *Matricaria Pubescens* à 6.25 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 88.94 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 90.95 % au cours de 120 minutes d'incubation.

La courbe (b) représente l'effet d'HE de *Lavandula dentata* à 6.25 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 58.75% après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 74% au cours de 120 minutes d'incubation.

La courbe (c) représente l'effet d'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* à 6.25 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 20.10% après 5 minutes d'incubation. Ce taux atteint 69.84% au cours de 120 minutes d'incubation.

La courbe (d) représente l'effet d'HE de *Thymus vulgaris* à 6.25 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 75.4 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 86.31 % au cours de 120 minutes d'incubation.

La courbe (e) représente l'effet d'HE d'*Artemisia campestris* à 6.25 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 85.42% après 0 minutes d'incubation. Ce taux diminue à 66.33% au cours de 120 minutes d'incubation.

A la lumière de ces résultats, nous concluons que les HEs *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* commencent à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport aux premières 90 minutes d'incubation.

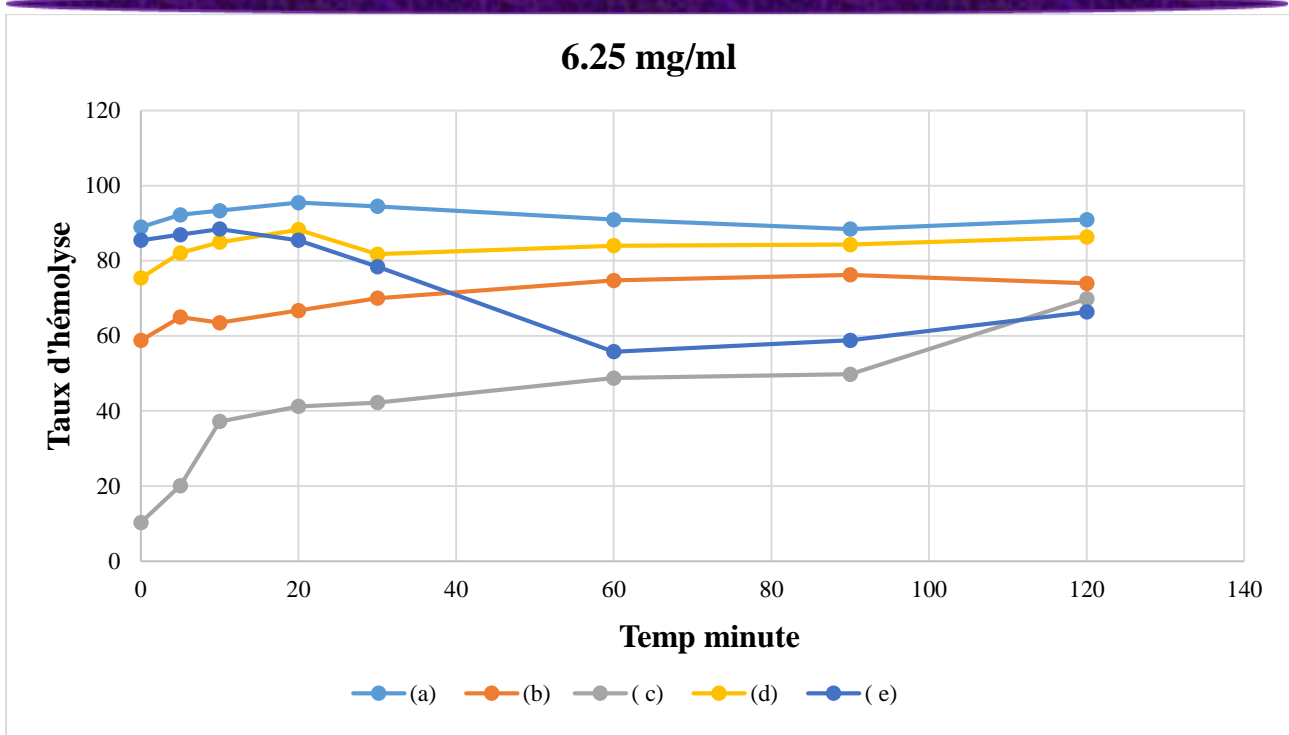


Figure (29) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 6.25 mg/ml.

La figure (30) représente l'effet de l'huile essentielle de *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* à concentrations (3.125 mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), représentent l'effet des HEs à 3.125 mg/ml pendant 120 min.

La courbe (a) qui définit l'effet d'HE *Matricaria pubescens* à une concentration de 3.125 mg/ml. Il apparaît que l'hémolyse est estimée autour de 92.96 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux diminué jusqu'à 87.93 % au bout de 120 minutes.

La courbe (b) qui définit l'effet d'HE de *Lavandula dentata* à une concentration de 3.125 mg/ml. Il apparaît que l'hémolyse est estimée autour de 51.5% après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 68 % au bout de 120 minutes.

La courbe (c) qui définit l'effet d'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* à une concentration de 3.125 mg/ml. Il apparaît que l'hémolyse est estimée autour de 37.18% après 5 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 65.32 % au bout de 120 minutes.

La courbe (d) qui définit l'effet d'HE de *Thymus vulgaris* à une concentration de 3.125 mg/ml. Il apparait que l'hémolyse est estimée autour de 84.01% après 5 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 87.81 % au bout de 120 minutes.

La courbe (e) qui définit l'effet d'HE d'*Artemisia campestris* une concentration de 3.125 mg/ml. Il apparait que l'hémolyse est estimée autour de 86.93% après 5 minutes d'incubation. Ce taux diminué jusqu'à 68.34 % au bout de 120 minutes.

A la lumière de ces résultats, nous concluons que les HEs *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* commencent à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport aux premières 90 minutes d'incubation.

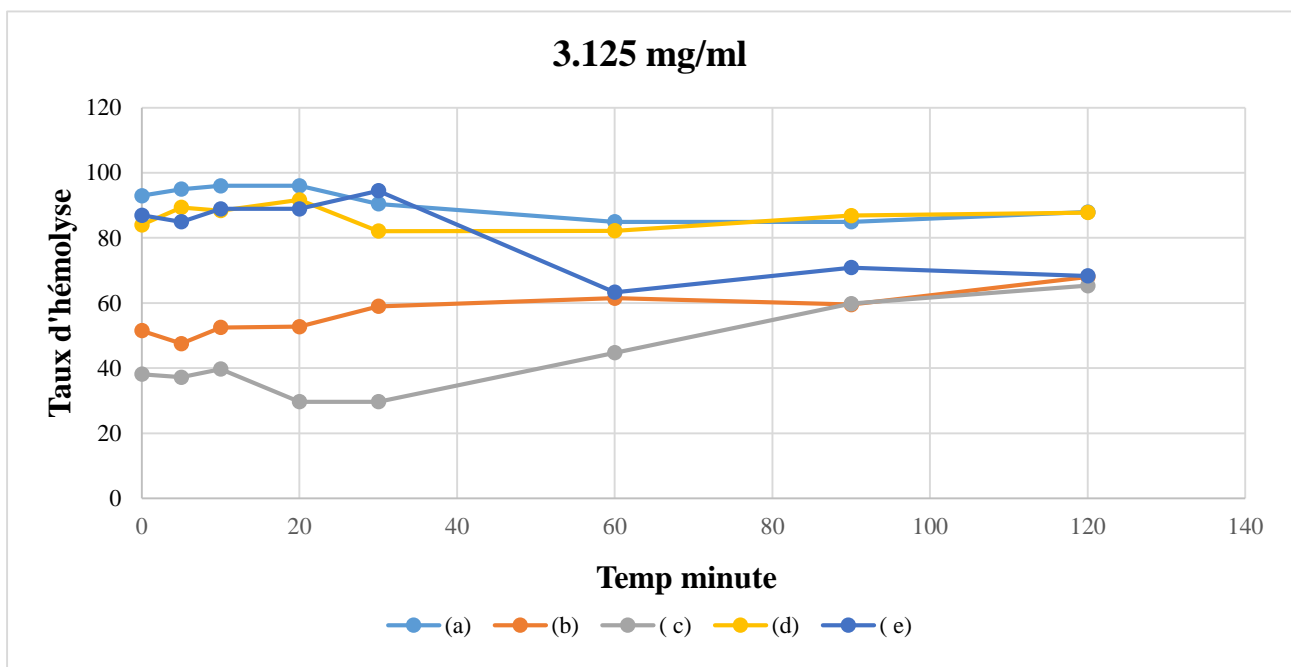


Figure (30) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 3.125 mg/ml.

La figure (31) représente l'effet de l'huile essentielle de *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* à concentrations (1.56 mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), représentent l'effet des HEs à 1.56 mg/ml pendant 120 min.

La courbe (a) représente l'effet d'HE de *Matricaria Pubescens* à une concentration de 1.56 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 89.44 % de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 91.45 % au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (b) représente l'effet d'HE de *Lavandula dentata* à une concentration de 1.56 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 56.25 % de leur hémoglobine après 5 minutes d'incubation. Ce taux atteint 72 % au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (c) représente l'effet d'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* à une concentration de 1.56 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 96.48% de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux diminué90.95% au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (d) représente l'effet d'HE de *Thymus vulgaris* à une concentration de 1.56 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 85.96% de leur hémoglobine après 5 minutes d'incubation. Ce taux augmente88.55% au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (e) représente l'effet d'HE d'*Artemisia campestris* à une concentration de 1.56 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 88.94% de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux diminué 75.34% au bout de 120 minutes d'incubation.

A la lumière de ces résultats, nous concluons que les HEs *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* commencent à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport les premières 90 minutes d'incubation.

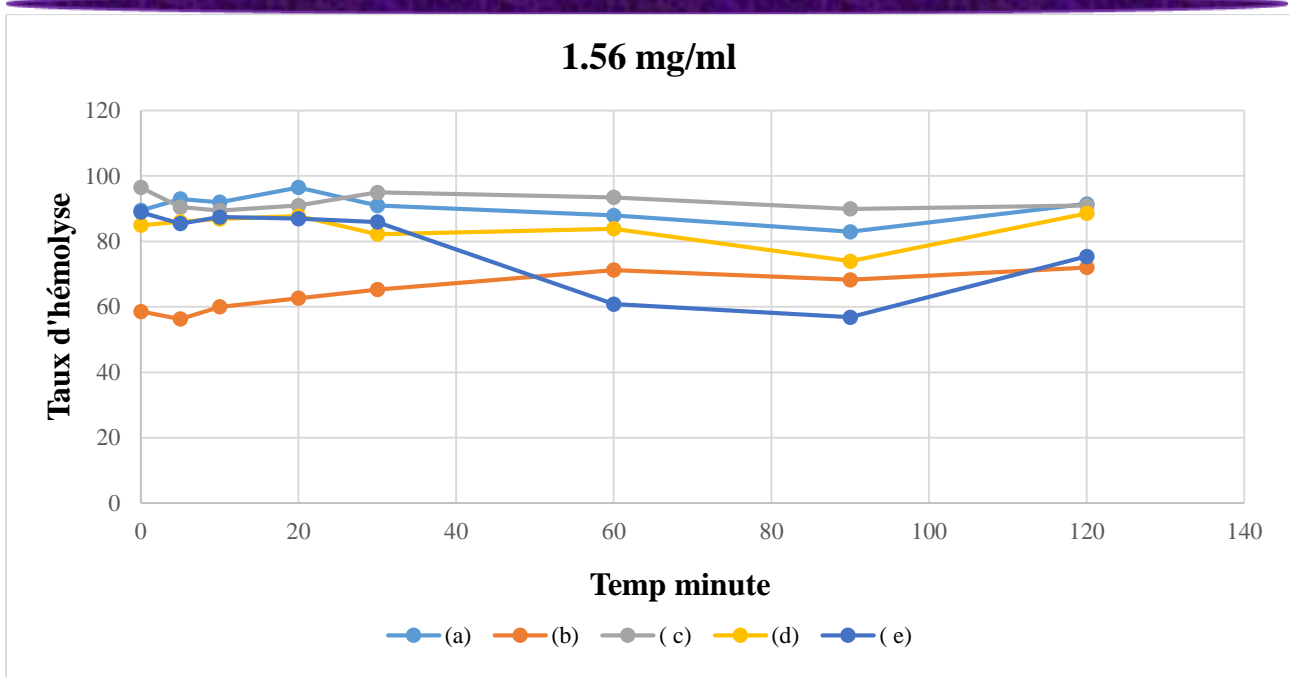


Figure (31) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 1.56 mg/ml.

La figure (32) représente l'effet de l'huile essentielle de *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* à concentrations (0.78 mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), représentent l'effet des HEs à 0.78 mg/ml pendant 120 min.

La courbe (a) représente l'effet d'HE de *Matricaria pubescens* à 0.78 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 90.45 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux diminué jusqu'à 36.18 % au bout de 120 minutes.

La courbe (b) représente l'effet d'HE de de *Lavandula dentata* à 0.78 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 57.5 % après 5 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 83.75 % au bout de 120 minutes.

La courbe (c) représente l'effet d'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* à 0.78 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 91.95 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 98.99 % au bout de 120 minutes.

La courbe (d) représente l'effet d'HE de *Thymus vulgaris* à 0.78 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 82 % après 5 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 86.38 % au bout de 120 minutes.

La courbe (e) représente l'effet d'HE d'*Artemisia campestris* à 0.78 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 73.86 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 77.88 % au bout de 120 minutes.

A la lumière de ces résultats, nous concluons que les HEs *Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et *Thymus vulgaris* commencent à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité des HEs vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport aux premières 90 minutes d'incubation.

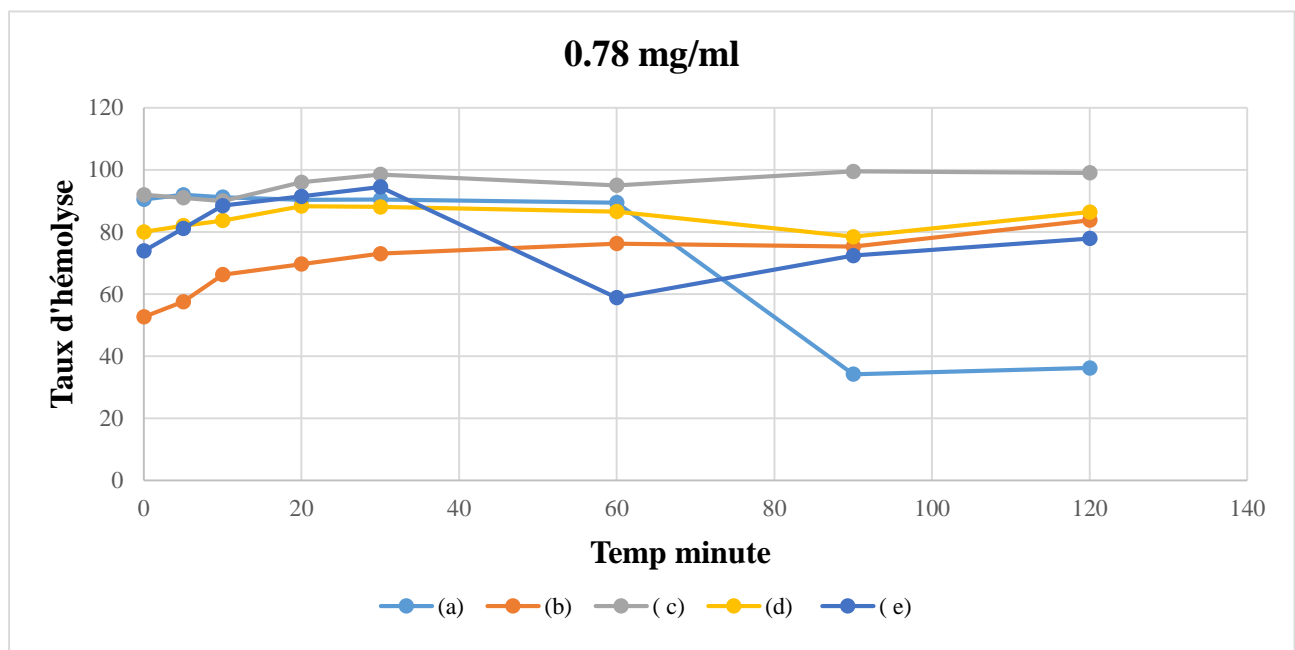


Figure (32) : Représente l'effet des HEs sur la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 0.78 mg/ml.

La synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* :

La figure (33) représente l'effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* à des différentes concentrations (mg/ml), sur la libération de l'hémoglobine par le globule rouge à 37°C. Les courbes (a), (b), (c), (d), (e), (f) et (g) représentant l'effet de cette synergie de 0.78 à 50 mg/ml.

Concernant la courbe (a) qui représente l'effet de la synergie de deux HE *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* de 50 mg/ml. Nous remarquons que les érythrocytes perdent près de 28.14 % de leur hémoglobine dès le premier temps d'incubation c-à-dire après le premier contact avec les globules rouges. Un taux autour de 69.84% au bout de 120 minutes a été achevé.

La courbe (b) représente l'effet de la synergie de deux HE *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* à une concentration de 25 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 32.16 % de leur hémoglobine après 0 minutes d'incubation. Ce taux atteint 51.75% au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (c) qui définit une concentration de 12.5 mg/ml. Il apparaît que l'hémolyse est estimée autour de 39.69% après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 57.28 % au bout de 120 minutes.

La courbe (d) représente l'effet de composé a testé à 6.25 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 41.20% après 0 minutes d'incubation. Ce taux augmente 52.26% au cours de 120 minutes d'incubation.

La courbe (e) qui définit une concentration de 3.125mg/ml. Il apparaît que l'hémolyse est estimée autour de 45.22% après 5 minutes d'incubation. Ce taux augmente jusqu'à 57.28 % au bout de 120 minutes.

La courbe (f) représente l'effet de la synergie de deux HE *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* à une concentration de 1.56 mg/ml. Les globules rouges perdent autour de 37.18% de leur hémoglobine après 5 minutes d'incubation. Ce taux augmente 52.26% au bout de 120 minutes d'incubation.

La courbe (g) représente l'effet de composé a testé à 0.78 mg/ml. Le taux d'hémoglobine extracellulaire est autour de 93.46 % après 0 minutes d'incubation. Ce taux diminué jusqu'à 49.74 % au bout de 120 minutes.

A la lumière de ces résultats, nous concluons que la synergie entre deux HEs *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* commence à provoquer la lyse cellulaire dès le premier temps. En plus, la cytotoxicité d'HE vis-à-vis des globules rouges est élevée au bout de 120 minutes par rapport aux premières 90 minutes d'incubation.

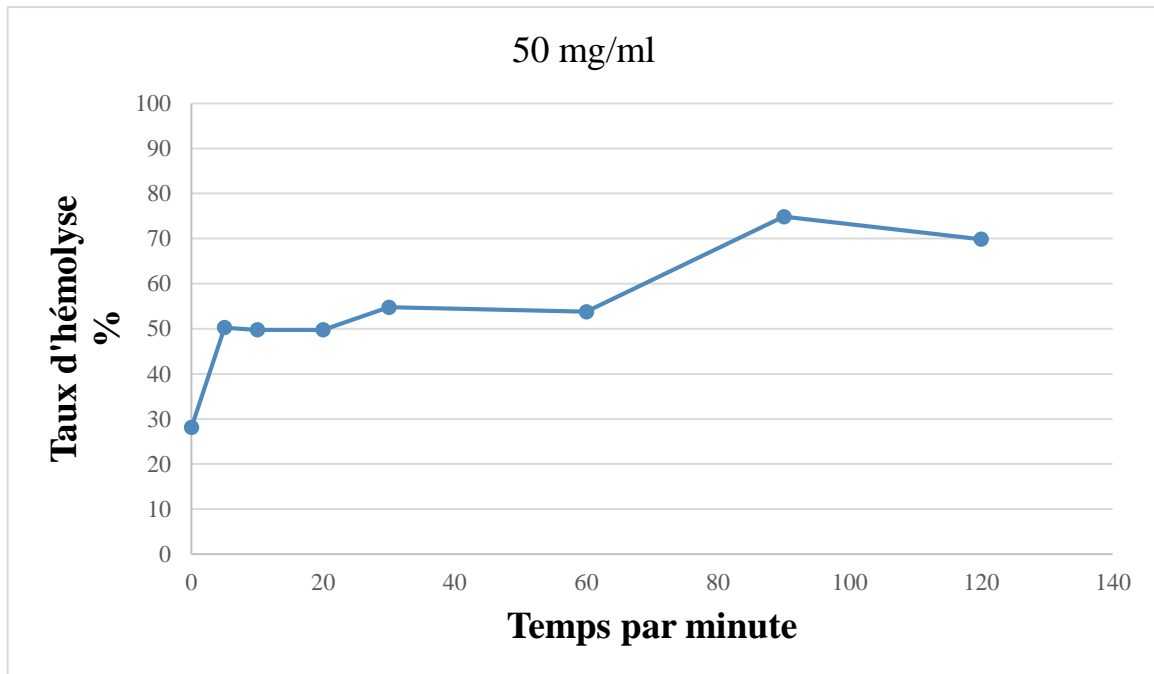


Figure (33-a) : Courbe (a) Effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 50 mg/ml.

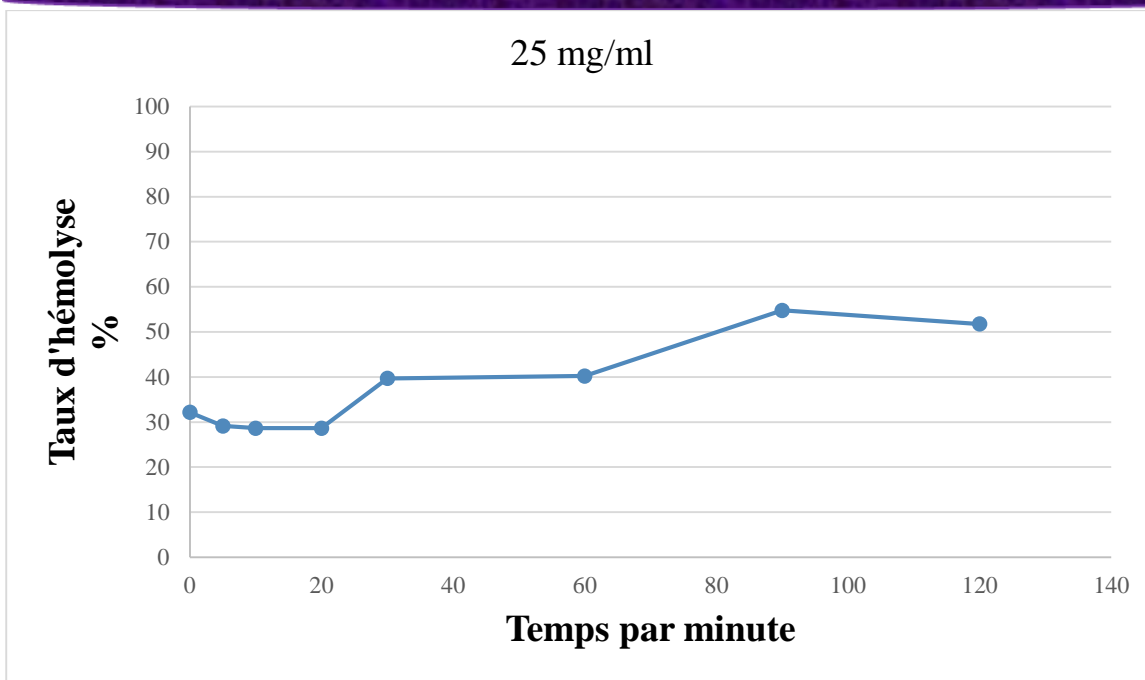


Figure (33-b) : Courbe (b) Effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 25 mg/ml.

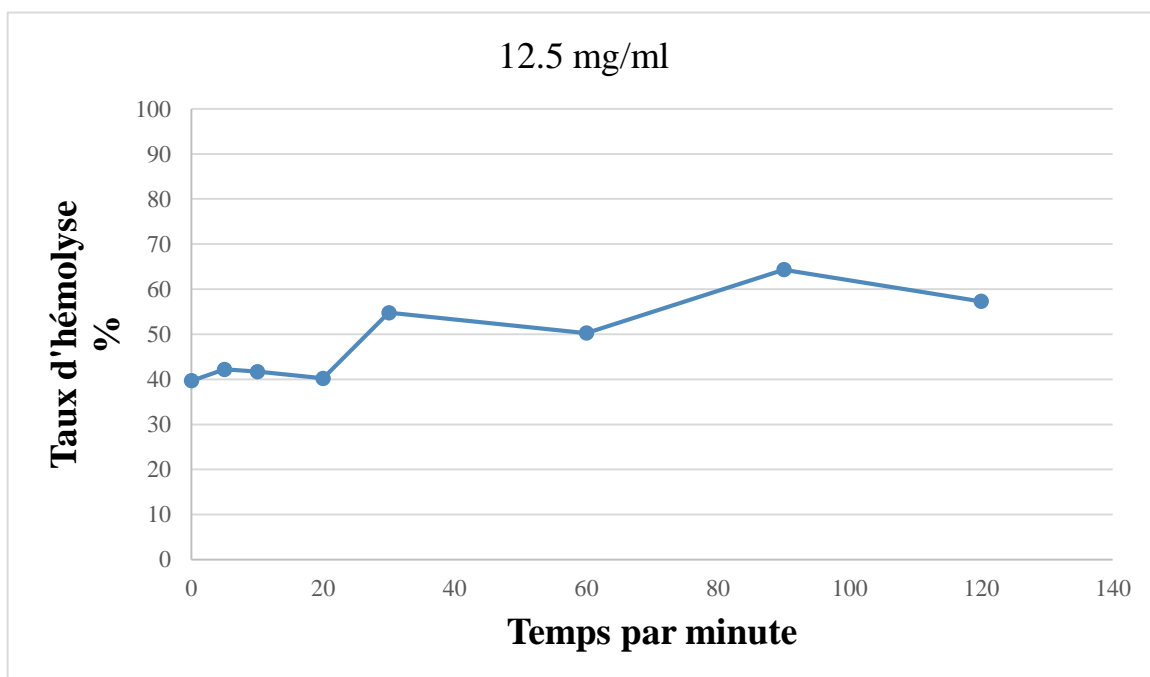


Figure (33-c) : Courbe (c) Effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 12.5 mg/ml.

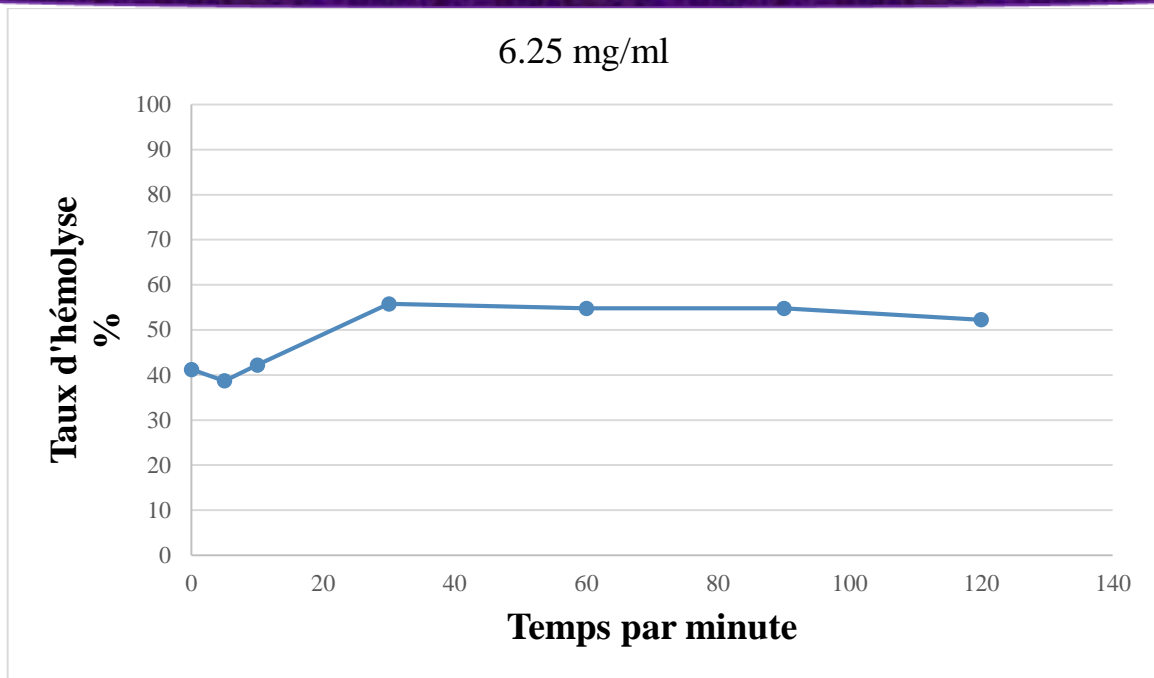


Figure (33-d) : Courbe (d) Effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 6.25 mg/ml.

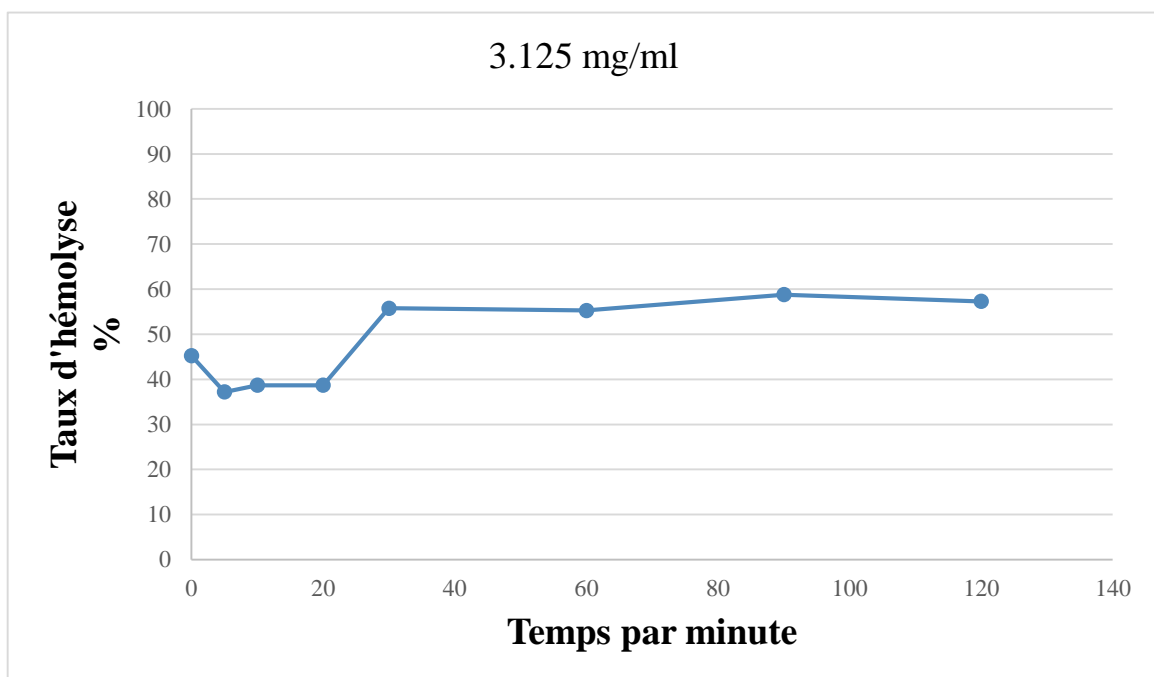


Figure (33-e) : Courbe (e) Effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 3.125 mg/ml.

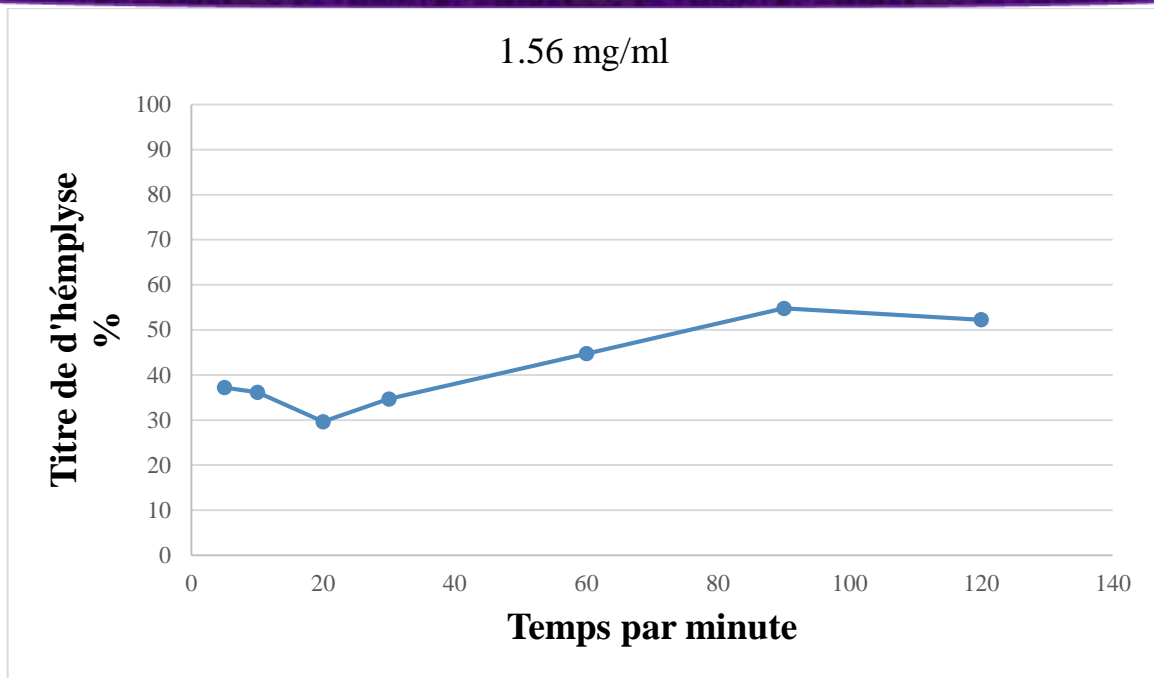


Figure (33-f) : Courbe (f) Effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 1.56 mg/ml.

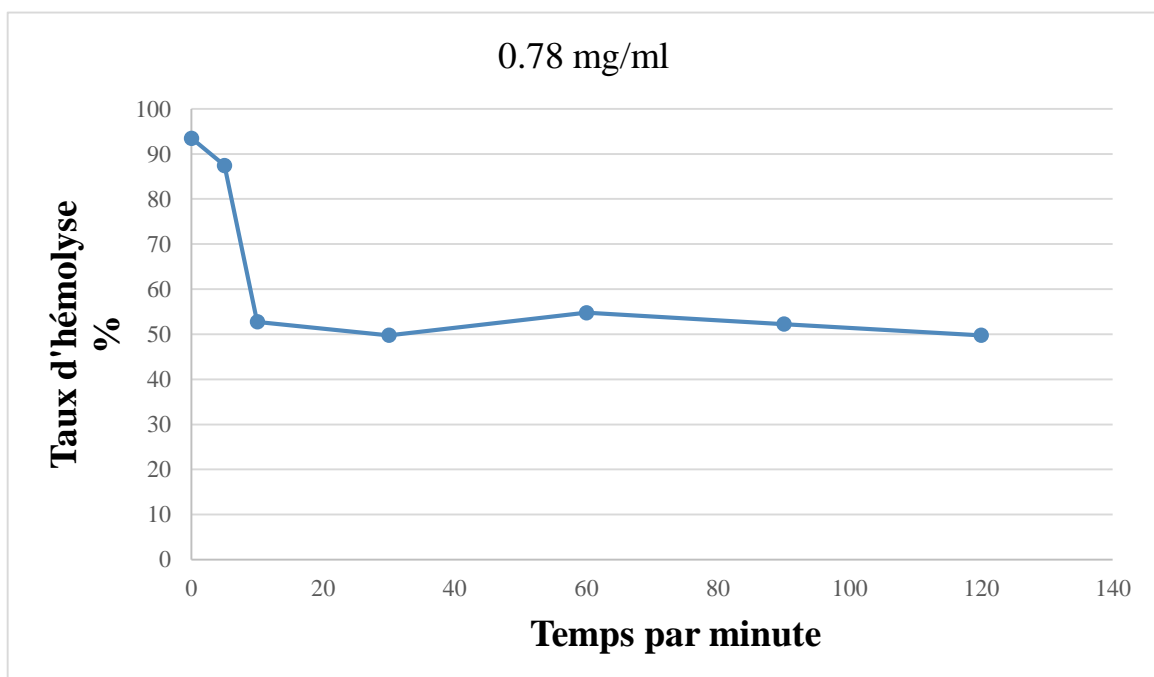


Figure (33-g) : Courbe (g) Effet de la synergie entre deux huiles essentielles *Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus* la perte de l'hémoglobine chez le globule rouge à concentration de 0.78 mg/ml.

Remarque :

Dans cette partie précédente, notre travail a porté sur l'évaluation de la cytotoxicité des HEs vis-à-vis du globule rouge humain. Lorsque la membrane plasmique du globule rouge est altérée par l'action des HEs, il s'ensuit une lyse qui se traduit par la libération de l'hémoglobine chez le globule rouge, et après le premier contact 0 min nous avons observé la formation des agrégats (caillot) c'est pourquoi nous avons remarqué des diminutions dans les taux d'hémoglobines extracellulaire après l'addition des différentes concentrations des HEs.

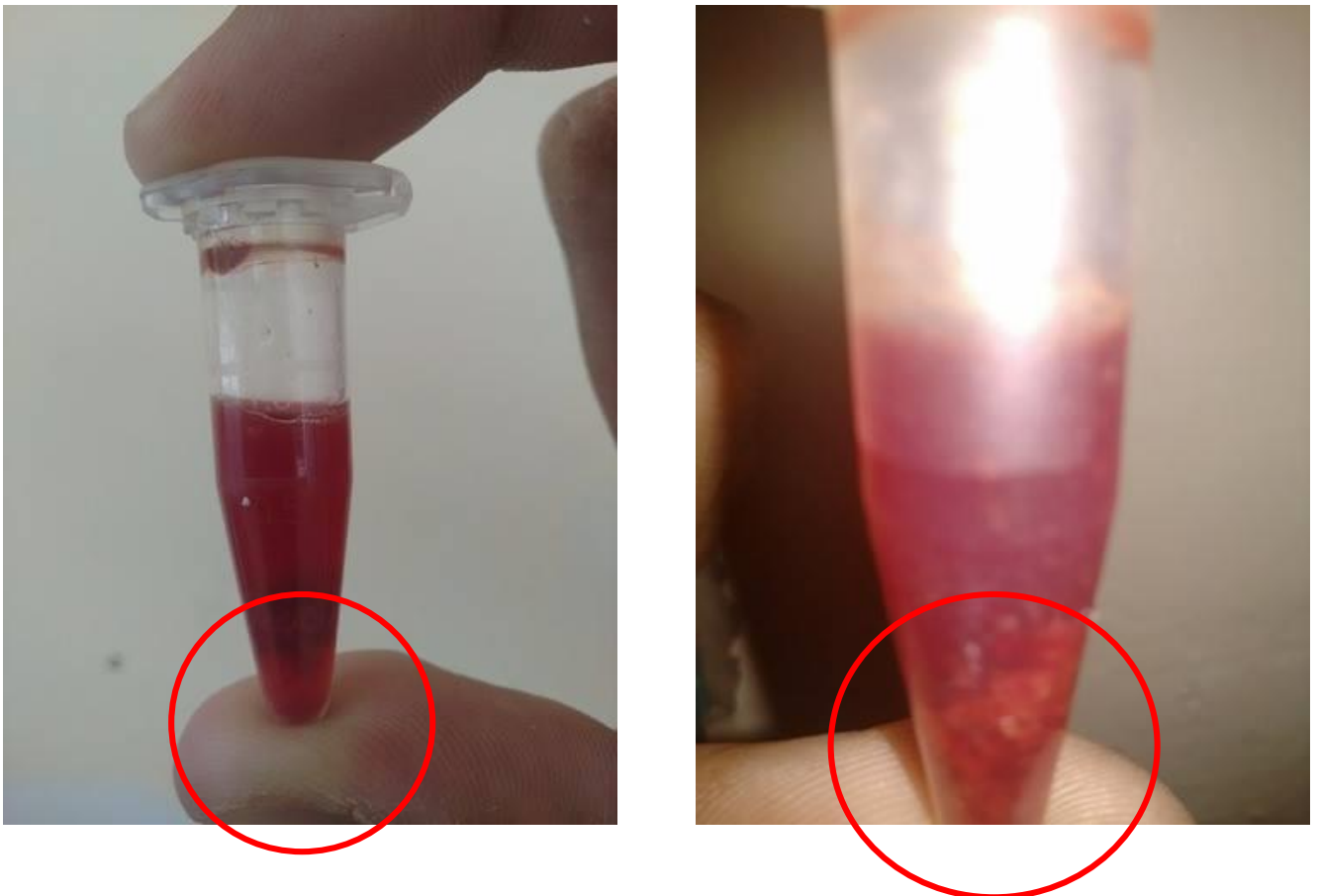


Figure (34) : Photo présente la formation des agrégats

2. Dosage de protéines totales :

Cette courbe est établie en utilisant l BSA. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de $y = 0.183 x + 0.401$ avec un coefficient de détermination ($R^2 = 0.924$)

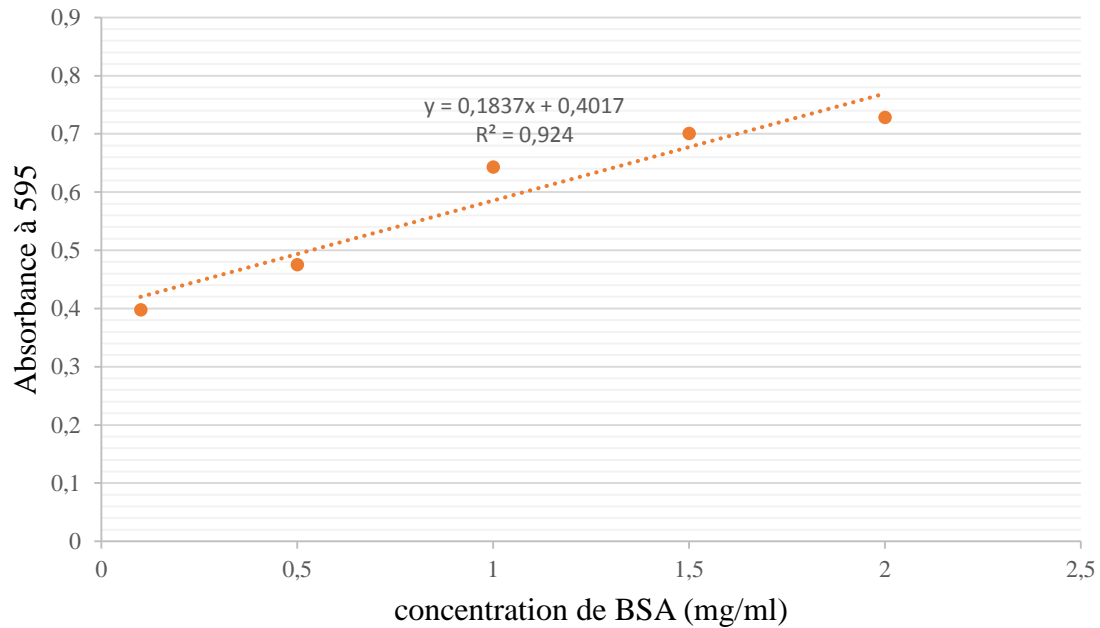


Figure (35) : Courbe d'étalonnage de BSA pour le dosage de protéines totales

La suspension érythrocytaire a été analysée quantitativement après un contact avec l'huile essentielle par spectrophotomètre UV-visible, pour leur contenu en protéines. Par la suite, les D.O. ont été exprimées à partir de la courbe d'étalonnage. L'estimation des teneurs en protéines totales a été réalisée en utilisant la méthode de Bradford (1976)

Tableau 3 : Contenus en protéines totales de suspension érythrocytaire après (0 et 60 min) de contact avec l'huile essentielle *Ammodaucus leucotrichus*.

Espèce : <i>Ammodaucu leucotrichus</i> .		
Concentration (mg/ml)	T ₀ min	T ₆₀ min
50 ml/ml	0.72	0.79
25 mg/ml	0.72	0.13
12.5 mg/ml	0.80	0.59
6.25 mg/ml	0.68	0.24

Tableau3 : Montre les résultats des contenus en protéines totales de suspension érythrocytaire après (0 et 60 min) de contact avec l'huile essentielle *Ammodaucus leucotrichus*. Ces résultats Constatent que la suspension érythrocytaire contient 0.72 mg/ml des protéines totales dès le premier contact avec d'huile essentielle a concentration 50 mg/ml. Et une concentration 0.79 après une heure d'incubation, et perturbation dans les autres résultats à cause de la formation des agrégats dans les tubes épendorf après un certain temps d'incubation.

En définitif, on peut dire que *Ammodaucus leucotrichus* présentent un effet sur la sortie des protéines érythrocytaire vers le milieu extérieur.

Conclusion :

De l'ensemble de nos résultats nous concluons que :

- Toutes les huiles essentielles utilisées possèdent une activité cytotoxique vis-à-vis globules rouges.
- Dans la concentration (50mg/ml ; 25mg/ml ; 12.5mg/ml ; 6.25mg/l ; 3.125mg/ml ; 1.56mg/ml) l'huile essentielle *Matricaria Pubescens* induit une libération massive de l'hémoglobine par rapport à les HEs.
- La synergie entre (*Lavandula dentata* et *Ammodaucus leucotrichus*) provoque la lyse des érythrocytes avec un taux 60% au bout 120 min concernant la concentration 50mg/ml.
- La lyse des érythrocytes provoqués par HE d'*Ammodaucus leucotrichus* affecte la libération de 0.79 mg/ml des protéines à 60 min d'incubation.

Conclusion

Les huiles essentielles, généralement présentées comme <<sans danger>> concentrent les composés actifs des végétaux. On les attribue empiriquement, depuis de nombreuses années, toutes sortes de propriétés thérapeutiques, spécifiques à chaque type de végétal utilisé. Mais les huiles essentielles sont aussi des composés puissants, qui nécessitent des précautions et de recommandations d'usage. L'intérêt des HE exige qu'une approche de sa toxicité soit étudiée.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité hémolytique des huiles essentielles de cinq plantes vis-à-vis des globules rouge humain, et de faire une synergie entre deux huiles essentielles pour évaluer leur effet sur les érythrocytes, et en fin de faire un dosage des protéines totales après une action hémolytiques de ces huiles essentielles.

A la lumière des résultats obtenus dans notre étude, on peut conclure que les tests d'hémolyse réalisés par la méthode spectrophotométrique ont montré que les huiles essentielles d'*Artemisia campestris*, *Lavandula dentata*, *Ammodaucus leucotrichus*, *Matricaria pubescens*, et de *Thymus vulgaris* présentent un effet cytotoxique, mais parmi les difficultés qu'ont été trouvé c'est la formation des agrégats.

L'étude quantitative des protéines totales de nos suspensions érythrocytaires après un contact avec l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* a montré que la solution à tester contient des concentrations (0.72 ; 0.72 ; 0.82 ; 0.68 mg/ml) des protéines après une action hémolytique des globules rouges par l'HE. Les résultats obtenus indiquent que les érythrocytes perdre les protéines dès le premier contact (0min), avec formation des agrégats qui se reflète par une diminution de la concentration des protéines après (60min).

Ce travail reste préliminaire et ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances responsables sur la formation des agrégats et sur la toxicité. L'accomplissement d'une étude toxicologique est une étape importante afin de pouvoir cerner tout effet indésirable et mieux identifier les sites d'action des substances actives.

Références

Bibliographique

1. **Aburjai, T.; Natsheh, F. M. *Phytotherapy Research* 2003, 17, 987-1000**
2. **Aguilar-Martinez. P (Janvier 2007) H2 – *Erythrocytes*. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes**
3. **Amin, K.M., Scarpa, A.L., Winkelmann, J.C., Curtis, P.J., Forget, B.G. (1993)The exon-intron organization of the human erythroid bêta-spectringene. *Genomics* 18: 118-125.**
4. **An, X.L., Takakuwa, Y., Nunomura, W., Manno, S., Mohandas, N. (1996) Modulation of band 3-ankyrin interaction by protein 4.1. Functional implications in regulation of erythrocyte membrane mechanical properties. *J. Biol. Chem.* 271: 33187-33191.**
5. **A, Chahma. »Catalogue des plantes sptanees du sahara septentrional algerien", Dar elhoda ain m'ila, 2006.**
6. **A. Chehma., « Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. », 2006, éd. Dar El Houda: Laboratoire de protections des écosystèmes en zones arides et semi arides, univ. Ouargla.**
7. **Baklouti, F., Huang, S.C., Vulliamy, T.J., Delaunay, J., Benz, E.J. Jr. (1997) Organization of the human protein 4.1 genomic locus: New insights into the tissue-specific alternative splicing of the pre-mRNA. *Genomics* 39: 289-302.**
8. **Bennett, V., Lambert, S. (1991)Thespectrinskeleton: Fromred cells to brain. *J. Clin. Invest.* 87: 1483-1489.**
9. **Bennett, V., Stenbuck, P.J. (1979) Identification and partial purification of ankyrin, the high-affinity membrane attachment site for humanerythrocytespectrin. *J. Biol. Chem.* 254: 2533-2541.**
10. **Bennett, V. (1992)Ankyrins. Adaptorsbetween diverse plasma membrane proteins and the cytoplasm. *J. Biol. Chem.* 267: 8703-8706.**
11. **Bruneton, J. *Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales*; 3e éd.; Tech.& Doc./Lavoisier, 1999.**
12. **Burt, S. *International Journal of Food Microbiology*2004, 94, 223-253.Tiwari, B. K.; Valdramidis, V. P.; O'Donnell, C. P.; Muthukumarappan, K.; Bourke, P.; Cullen, P. J. *Journal of agricultural and food chemistry* 2009, 57, 5987–6000**
13. **Byers, T.J., Branton, D. (1985)Visualization of the protein associations in the erythrocyte membrane skeleton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 6153-6175.**
14. **B.Zarrou., (2012),"Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de le plante Matricaria Pubescens (Astéracéas) et evaluation de leur activité antioxydante", Mémoire master, Université Kasdi Merbah Ouargla, 1.**
15. **Bruneton J., 1993, Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes médicinales, Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris 268.**
16. **Beltran, E., Tejera, Candollea 38, 1983, 131.z**
17. **Chishti, A.H. (1998) Function of p55 and its non erythroid homologues. *Curr. Opin. Hematol.* 5: 116-121.**
18. **Chaker El Kalmouni .Decembre 2011 .Thèseen vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE :Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées**
19. **Conby, J.G. (1993) Structure, function, and molecular genetics of erythroid membrane skeletal protein 4.1 in normal and abnormalred blood cells. *Semin. Hematol.* 30: 58-73.**
20. **Cynober et al, (2000)**
21. **Elasticité membranaire**[http://www.msc.univparisdiderot.fr/~henon/elasticite membranaire.html](http://www.msc.univparisdiderot.fr/~henon/elasticite_membranaire.html)
22. **Fukushima, Y., Byers, M.G., Watkins, P.C., Winkelmann, J.C., Forget, B.G., Shows, T.B. (1990) Assignment of the gene for β-spectrin (SPTB) to chromosome 14q23-q24.2 by in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.* 53: 232-233.**

23. **Gallagher, P.G., Forget, B.G. (1993)** Spectrin genes in health and disease. *Semin. Hematol.* 30:4-20.
24. **Gallagher, P.G., Tse, W.T., Scarpa, A.L., Lux, S.E., Forget, B.G. (1997)** Structure and organization of the human ankyrin-1 gene: Basis for complexity of pre-mRNA processing. *J. Biol. Chem.* 272: 19220-19228.
25. **Gallagher, P.G., Forget, B.G. (1998)** An alternate promoter directs expression of a truncated, muscle-specific isoform of the human ankyrin 1 gene. *J. Biol. Chem.* 273: 1339-1348
26. **Gallagher, P.G., Sabatino, D.E., Garette, L.J., Bodine, D.M., Forget, B.G. (1998)** Erythroid-specific expression of the human ankyrin 1 (Ank 1) gene in vitro and in vivo is mediated by a promoter that requires GATA-1 and CACCC-binding proteins for its activity. *Blood* 90: 7a.(02) hh.pdf
27. **Georges Marchal et Gérard Duhamel (1967)** LE SANG. Presses universitaires de France. P5-6
28. **Gilligan, D.M., Bennett, V. (1993)** The functional complex of the membrane skeleton. *Semin. Hematol.* 30:74-83.
29. **Gimm, J.A., An, X., Nunomura, W., Mohandas, N. (2002)** Functional characterization of spectrin-actin binding domains in 4.1 family of proteins. *Biochemistry* 41: 7275-7282.
30. **Girre L. :** Traditions et propriétés des plantes médicinales, Histoire de la pharmacopée, Privat, éditions de santé, Toulouse (FR), 1997
31. **Greger H. , 1984,** *Planta med.* 375.
32. **Guignard J L, Cossen L, Henry M, (1985).** Abrégé de phytochimie, édition Masson, Paris.
33. **Guillaume Lenormand, 2001 ;** Élasticité du squelette du globule rouge humain – une étude par pinces optiques – Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI.
34. **Helander IM, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM,**
35. **Hemming, N.J., Anstee, D.J., Staricoff, M.A., Tanner, M.J., Mohandas, N. (1995)** Identification of the membrane attachment sites for protein 4.1 in the human erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 270: 5360-5366.
36. **Huang, J.P., Tang, C.J., Kou, G.H., Marchesi, V.T., Benz, E.J. Jr., Tang, T.K. (1993)** Genomic structure of the locus encoding protein 4.1. Structural basis for complex combinatorial patterns of tissue-specific alternative RNA splicing. *J. Biol. Chem.* 268: 3758-3766
37. **Julie-Anne DO-ROUVIERE, 2008 ;** DIAGNOSTIC DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE PAR CYTOMETRIE EN FLUX ; THESE pour l'obtention du DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
38. **Joulain, D., König, A. W.,** «The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpe Hydrocarbons », E. B. Verlag, Hamburg, 1998.
39. **Kim, A.C., Van Huffel, C., Lutchman, M., Chishti, A.H. (1998)** Radiation hybrid mapping of EPB41L1, a novel protein 4.1 homologue, to human chromosome 20q11.2-q12. *Genomics* 49: 165-166.
40. **Kuhlman, P.A., Hughes, C.A., Bennett, V., Fowler, V.M. (1996)** A new function for adducin. Calcium/calmodulin-regulated capping of the barbed ends of actin filaments. *J. Biol. Chem.* 271: 7986-7991.
41. **Kurkin, V.A. 2003.** Phenylpropanoids from medicinal plants. Distribution, classification, structural analysis and biological activity. *Chem. Nat. Compd.* 39,123-153.
42. **Lambert, S. Yu, H., Prchal, J.T., Lawler, J., Ruff, P., Speicher, D., Cheung, M.C., Kan, Y.W., Palek, J. (1990)** cDNA sequence for human erythrocyte ankyrin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 1730-1734.
43. **Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ (2001)** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91: 453-462

44. **Leto, T.L., Marchesi, V.T. (1984)** A structural model of human erythrocyte protein 4.1. *J. Biol. Chem.* 259: 4603-4608.
45. **Lux, S.E., John, K.M., Bennett, V. (1990)** Analysis of cDNA for human erythrocyte ankyrin indicates a repeated structure with homology to tissue-differentiation and cell-cycle control proteins. *Nature* 344: 36-42.
46. **Libbey, L. M., Essent, J.,** *Oil Res.* 3, 1991, 192.
47. **Marianne Piochon(2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. mémoire présenté à l'Université du Québec à Chicoutimi
48. **Maurice N. (1997).** De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed : Lavoisier, Paris.; 1214
49. **Morrow, J.S., Rimm, D.L., Kennedy, S.P., Cianci, C.D., Sinard, J.H., Weed, S.A. (1997)** Of membrane stability and mosaics: The spectrin cytoskeleton, in: *Handbook of Physiology* (Hoffman, J., Jamieson, J. eds.), Oxford, London, pp. 485.
50. **M. Ould El Hadj Didi, M. Hadj-Mahammed, H. Zabeirou.,** " Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'ouargla ", *Courrier du Savoir*, 03(2003), page 50.
51. **M. D. Ould El Hadj, Hadj-Mahammed M., H. Zabeirou., 2004,** *Revue Rivista, Italiana Eppos.*, 37, 17-25.
52. **Makhloufi Ahmed ,** " Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. " Thèse Doctorat, Université Aboubaker Belkaid , p 13,14,15,16,17.
53. **Magnin-Gonze J. :** Histoire de la botanique, les références du naturaliste, Delachaux et Niestlé, Paris, 2004
54. **Ntezurubanza. (2000)** Constituants des huiles essentielles.
55. **N. Boutaghane, A. Kabouche, R. Touzani, Y.A. Touzani, A. El-Azzouny, C. Bruneau, Z. Kabouche., 2011,** *Nat. Prod. Com.*, 6 (2), 251-252
56. **N. Bounaga, S. A.** Brac de la perrière. « Ressources phylogénétiques du Sahara », 1988, *Ann. Ins. Agro. ElHarach, Alger*, 12(1), T. 1.
57. **Ozenda, P.,** « Flore de Sahara septentrional et central, Centre national de la recherche scientifique », Paris, 1977.
58. **Picart, C., Discher, D.E. (1999)** Actin protofilament orientation at the erythrocyte membrane. *Biophys. J.* 77: 865-878.
59. **Pierangeli, G., Vital, G. and Windell, R. (2009).** Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f). King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *J. Medicinal Plants Res.* 3(7) : 511518
60. **Pinder, J.C., Gratzner, W.B. (1983)** Structural and dynamic states of actin in the erythrocyte. *J. Cell Biol.* 96:768-775.
61. **Peters, L.L., Lux, S.E. (1993)** Ankyrin. Structure and function in normal cells and hereditary spherocytes. *Semin. Hematol.* 30: 85-118.
62. **Schauenberg P . Ferdinand P. (2006).** Guide des plantes médicinales. Ed : Detachaux et Niestlé. P8
63. **Schischmanoff, P.O., Yaswen, P., Parra, M.K., Lee, G., Chasis, J.A., Mohandas, N., Conboy, J.G. (1997)** Cell shape-dependent regulation of protein 4.1 alternative pre-mRNA splicing in mammary epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 272: 10254-10259.
64. **Sikkema J, de Bont JAM, Poolman B (1994)** Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269: 8022-8028
65. **Speicher, D.W., Marchesi, V.T. (1984)** Erythrocyte spectrin is comprised of many homologous triple helical segments. *Nature* 311: 177-180.

66. **S. Benhouhou.**, « A guide to medicinal plants in North Africa » 2005, éd. IUCN Centre for Mediterranean Cooperation. Malaga, Spain. 7-8.
67. **Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R (2002)** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 1561-1568
68. **Vertessy, B.G., Steck, T.L. (1989)** Elasticity of the human red cell membrane skeleton. Effects of temperature and denaturants. *Biophys. J.* **55**: 255-262.
69. **von Wright A (1998)** Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 3590-3595.
70. **Wallin, R., Culp, E.N., Coleman, D.B. (1984)** A structural model of human erythrocyte band 2.1: Alignment of chemical and functional domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 4095-4099.
71. **Weaver, D.C., Marchesi, V.T. (1984)** The structural basis of ankyrin function, I. Identification of two structural domains, and II. Identification of two functional domains. *J. Biol. Chem.* **259**: 6165-6169 and 6170-6175.
72. **Winkelmann, J.C., Chang, J.G., Tse, W.T., Scarpa, A.L., Marchesi, V.T., Forget, B.G. (1990)** Full-length sequence of the cDNA for human erythroid beta-spectrin. *J. Biol. Chem.* **265**: 11827-11832.
73. **Winkelmann, J.C., Forget, B.G. (1993)** Erythroid and nonerythroid spectrins. *Blood* **81**: 3173-3185.
74. **W. Tadrent, A. Kabouche, R. Touzani et Z. Kabouche, 2014, J. Mater. Environ. Sci.** **5** (xxx) in press.
75. **Yawata, A., Kanzaki, A., Uehira, K., Yawata, Y. (1994)** A surface replica method: A useful tool for studies of the cytoskeletal network in red cell membranes of normal subjects and patients with a β -spectrin mutant (spectrin Le Puy: β 220/214). *Virchows Archiv* **425**: 297-304
76. **Guillaume Lenormand, 2001 ;** Élasticité du squelette du globule rouge humain – une étude par pinces optiques – Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI.
77. **Julie-Anne DO-ROUVIERE, 2008 ;** DIAGNOSTIC DE LA SPHEROCYTOSE HEREDITAIRE PAR CYTOMETRIE EN FLUX ; THESE pour l'obtention du DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
78. **Zakaria I., Ahmat N., Jaafar FM., Widyawaruyanti A., (2012).** Flavonoids with antiplasmodial and cytotoxic activities of *Macaranga triloba*. *Fitoterapia* **83**:968-972