

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Screening phytochimique et activités biologiques de trois Plantes (*Thymus ciliatus*, *Globularia alypum* L et *Phillyrea angustifolia*) de la région de Saida

Présenté par :

- M^{elle} : KOURTOUT Imene
- M^{elle} : BOUZAHZAH Zineb

Soutenu le : 29/06/2022

Devant le jury composé de :

Président	Dr. HASSANI Maya	Université de SAIDA
Examineur	Dr. AMMAM Abdelkader	Université de SAIDA
Rapporteur	Dr. GHOUTI Dalila	Université de SAIDA

Année universitaire 2021/2022

Dédicace :

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce modeste travail....

A mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A ma chère adorable sœur et mon seul frère

A ma grande mère et mes tantes

Pour leur amour et sacrifice

*A mon binôme **ZINEB** et a toute ma promo 2022 Master 2 Microbiologie appliquée que j'ai passé avec des moments inoubliables malgré la courte durée que je les ai rencontré.*

KOUIRTOUT Imene.

Dédicace :

Les louanges sont à Allah seigneur des mondes qui ma comblé de grâce en me permettant d'achever en bonne santé ce modeste travail

que je dédie :

Ma chère mère et mon cher père Ceux que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois la vie et qui

N'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de m'encourager par leurs prières et leurs sacrifices.

À ma sœur et mes frères et a tous les membres de ma famille

*A mon binôme **IMENE**, ma sœurs que Dieu m'a donné sur le chemin de L'aventure, tous les étudiants du Master Microbiologie appliqué 2022.*

BOUZHZAHA Zineb

REMERCIEMENT

*En premier lieu, nous tenons à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la foi et de nous avoir permis d'en arriver là.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Mme **GHOUTI DALILA**, pour avoir accepté de nous encadrer, pour ses précieux conseils et encouragements.*

*Nous remercions les membres de jury **Mme HASSANI MAYA** d'avoir accepté de présider le jury et **Mr AMMAM ABDELKADER** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Ainsi, nous adressons nos remerciements aux ingénieurs de laboratoire Mrs **LAARADJ, OTHMAN** et **HMED** pour leur aide et sans oublié Mme **HABIBA** et **Mr BODOU** Pour leurs précieux conseils, leur temps, leurs et leur aides. En fin, nous remercions tous les enseignants de la faculté de **Dr Moulay TAHAR** et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Merci

Liste des abréviations

AINS : Anti inflammatoire non stéroïdien.

AQ : Aqueux.

ATCC : American Type Culture Collection.

BHA : Butylated Hydroxyanisole.

BHT : butylated hydroxytoluene.

C° : degrés Celsius.

CAT : l'enzyme héminique catalase.

DMSO : le di méthylsulfoxyde..

DPPH : Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.

ERO : Espace réactif d'oxygène.

ET-OH : éthanol.

FECL₃ : le chlorure de fer.

FRAP : Ferric redocing /antioxydant power.

G : Gramme.

GLB : *Globularia alypum L.*

GRAS : Generally Recognized as safe .

GSH : Glutathion sulfhydryle.

GST : glutathion S-transférase

HCL : l'acide chlorhydrique.

HE : huile essentiel.

H₂SO₄ : l'acide sulfurique.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

MCF : McFarland.

MHB : Mueller-Hinton Broth.

Min : minutes.

ML: millilitre.

NACL : chlorure de sodium.

NAOH : l'hydroxyde de sodium.

NM : nanomètre.

OMS : Organisation mondiale de santé.

PH : Potentiel

PHI : *Phillyrea angostifolia*

P/P : Poids de l'extrait,huile/ poids de la matière végétale en gramme.

ROS : Réactif oxygénées.

SOD : Superoxyde dismutase.

THY : *Thymus cilatus*.

UFC : unité formant colonie.

UV : ultraviolet.

V : volume.

µl : microlitre.

% : Pourcentage.

N°	Liste des Tableaux	PAGE
1	Caractéristiques phytochimiques des plantes.	51
2	Les caractéristiques des extraits aqueux et éthanoliques de <i>Globularia alypum</i> et <i>Phillyrea angustifolia</i> .	54
3	Activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées	60

Liste des figures

Figure 01 : <i>Thymus ciliatus</i>	7
Figure 02 : <i>Phillyrea angustifolia</i>	11
Figure 03 : <i>Globularia alypum L.</i>	13
Figure 04 : schéma de classification des composés phénoliques.....	16
Figure 05 : Squelette de base des flavonoïdes.....	18
Figure 06 : Structure d'alcaloïde.....	18
Figure 07 : Structure des coumarines.....	19
Figure 08 : Structure des principaux anthocyanes.....	20
Figure 09 : mode d'action contre les bactéries.....	22
Figure 10 : Effets bénéfiques des poly phénols végétaux sur la santé.....	26
Figure 11 : Principe du test DPPH°.....	31
Figure 12 : Principe réactionnel du test FRAP.....	32
Figure 13 : Principe du test de blanchiment du β -carotène.....	32
Figure 14 : Carte de situation géographique de Saida.....	38
Figure 15 : Valeurs des IC ₅₀ du test de piégeage des radicaux libres des extraits des plantes étudiées.....	56
Figure 16 : Valeurs de l'activité anti radicalaire des extraits des plantes étudiées.....	57

Liste des photos

Photo 01 : Test des tannins.....39

Photo 02 : Test des flavonoïdes.....40

Photo 03 : Test des anthocyanes.....40

Photo 04 : Test des alcaloïdes.....41

Photo 05 : Test d'amidon.....42

Photo 06 : Montage d'extraction de l'huile essentiel de *Thymus ciliatus*.....43

Photo 07 : L'huile récupérée.....44

Photo 08 : L'extrait aqueux / éthanolique.....45

Photo 09 : Résultats du test DPPH°.....46

Photo 10 : La technique des puits.....47

Photo 11 : L'activité antimicrobienne.....49

Photo 12 : l'aspect de l'huile essentielle obtenu par hydro distillation de *Thymus ciliatus*.....53

Photo 13 : l'aspect des extraits éthanoliques/ aqueux (liquide et séché) des plantes étudiées.....55

Photo 14 : Les souches sensibles des extraits de *Gloubularia*.....63

Photo 15 : Les souches sensibles des extraits de *Phillyrea*.....63

Photo 16 : Inhibition totale par l'huile essentielle de *Thymus ciliatus*.....64

Résumé :

Dans cette étude, notre choix s'est porté sur trois plantes médicinales poussent spontanément dans la région de Saida à savoir : *Thymus ciliatus*, *Phillyrea aungustifolia* et *Globularia alypum* L, possèdent des métabolites reconnus à travers diverses activités biologiques telles que l'activité antioxydant, antibactérienne et anti-fongique. Les tests phytochimiques ont montré la richesse de ces plantes en flavonoïdes, coumarines, stérol et stéroïdes comme on note la présence de l'amidon chez *thymus ciliatus* et l'absence des alcaloïdes et des antocyanes chez *Globularia alypum*, *thymus ciliatus* avec une existence forte des alcaloïdes chez *Phillyrea aungustifolia*. L'activité antioxydant évaluée par le test DPPH a montré une capacité bonne à modérée avec (IC₅₀ = 0,22 mg/ml), (IC₅₀ = 0,26 mg/ml) des extrait hydroéthanolique de *Globularia alypum*, *Phillyrea aungustifolia* respectivement sachant que l'huile essentiel de *Thymus ciliatus* classe en premier par une excellente capacité d'antioxydant (IC₅₀ = 0,00001 mg/ml), en dernier lieu l'infusion de *Phillyrea aungustifolia* avec un IC₅₀ = 3,04 mg/ml.

L'effet antimicrobien des extraits des plantes étudiées évaluées par la technique de diffusion sur le gélose vis-à-vis 14 souches microbiennes. Par ailleurs, les résultats de l'activité antimicrobienne suggèrent que les souches *Bacillus sp*, *Entérobacer*, *E.coli*, *C.albicans* et *A.Niger* sont les souches les plus sensibles sur l'extrait hydroéthanolique de *Globularia alypum* avec les diamètres 24mm, 23mm, 20mm, 21mm et 20 mm respectivement alors que *Phillyrea aungustifolia* a une faible activités sauf que *E.coli* avec une zone d'inhibition d'un 25mm. Tandis que la meilleur activité de l'huile essentiel de *Thymus ciliatus* agir contre toutes les souches testés d'une inhibition totale.

La présence contemporaine de bioactivités suggère que *Thymus ciliatus*, *Globularia alypum* L et *phillyrea angustifolia* peuvent être des nouvelles molécules dans les industries alimentaires et pharmaceutiques .

Mots clés : *Thymus ciliatus*, *Phillyrea aungustifolia*, *Globularia alypum*, activité antioxydant, activité antimicrobienne, tests phytochimiques, huile essentiel.

Abstract:

In this study, our choice fell on three medicinal plants growing spontaneously in the region of Saida, namely: *Thymus ciliatus*, *Phillyrea aungustifolia* and *Globularia alypum* L, possess metabolites recognized through various biological activities such as antioxidant activity, antibacterial and anti-fungal. Phytochemical tests have shown the richness of these plants in flavonoids, coumarins, sterols and steroids as we note the presence of starch in *thymus ciliatus* and the absence of alkaloids and antocyanes in *Globularia alypum*, *thymus ciliatus* with a strong existence of alkaloids in *Phillyrea aungustifolia*. The antioxidant activity evaluated by the DPPH test showed a good to moderate capacity with (IC₅₀ = 0.22 mg/ml), (IC₅₀ = 0.26 mg/ml) hydroethanolic extracts of *Globularia alypum*, *Phillyrea aungustifolia* respectively knowing that the essential oil of *Thymus ciliatus* ranks first with an excellent antioxidant capacity (IC₅₀ = 0.00001mg/ml), lastly the infusion of *Phillyrea aungustifolia* with an IC₅₀=3.04 mg/ml.

The antimicrobial effect of the extracts of the plants studied evaluated by the technique of diffusion on the agar against 14 microbial strains. Furthermore, the results of the activity antimicrobial suggest that *Bacillus sp*, *Enterobacter*, *E.coli*, *C.albicans* and *A.Niger* strains are the most sensitive strains on the hydroethanolic extract of *Globularia alypum* with the diameters 24mm, 23mm, 20mm, 21mm and 20 mm respectively then that *Phillyrea aungustifolia* has a weak activity except that *E.coli* with a zone of inhibition of 25mm. While the best activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* acts against all strains tested with total inhibition.

The contemporary presence of bioactivities suggests that *Thymus ciliatus*, *Globularia alypum* L and *Phillyrea angustifolia* may be new molecules in food and pharmaceutical industries.

Keywords: *Thymus ciliatus*, *Phillyrea aungustifolia*, *Globularia alypum*, antioxidant activity, antimicrobial activity, phytochemical tests, essential oil.

ملخص:

في هذه الدراسة، اخترنا ثلاثة نباتات طبية تنمو تلقائيًا في منطقة صيدا *Thymus ciliatus* و *Phillyrea* و *Globularia alypum* و *L. angustifolia*، لديها مستقبلات تم التعرف عليها من خلال أنشطة بيولوجية مختلفة مثل مضادات الأكسدة ومضادات البكتيريا والنشاط المضاد للفطريات. أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية ثراء هذه النباتات في الفلافونويد والكومارين والستيرول والستيرويدات كما لوحظ وجود النشا في الزعر الهذب وغياب القلويدات وأنطوسيان في جلوبولاريا أليوم، ثيموس سيلياتوس مع وجود قوي للقلويدات في فيليريا أظهر النشاط المضاد للأكسدة الذي تم تقييمه بواسطة اختبار DPPH قدرة جيدة إلى معتدلة ($IC_{50} = 0.22$ ملغم/مل، $IC_{50} = 0.26$ ملغم/مل) مستخلص هيدروميتانوليك من *Phillyrea angustifolia*، *Globularia alypum* يسترجع مع العلم أن الزيت الأساسي من *Thymus* التأثير المضاد للميكروبات لمستخلصات النباتات المدروسة التي تم تقييمها من خلال تقنية الانتشار على الأجار مقابل 14 سلالة ميكروبية. بالإضافة إلى ذلك، تشير نتائج النشاط المضاد للميكروبات إلى أن السلالات *Bacillus sp* و *Enterobacter* و *E. coli* و *C. albicans* و *A. Niger* هي أكثر السلالات حساسية على مستخلص الإيثانول المائي من *Globularia alypum* بأقطار 24 و 23 مم و 20 مم و 21 مم و 20 مم في حين أن أفضل نشاط للزيت الأساسي لـ *Thymus ciliatus* يعمل ضد جميع السلالات اختبر تثبيطًا تامًا. يشير الوجود المعاصر للأنشطة الحيوية إلى أن *Thymus ciliatus* و *Globularia alypum* L و *Phillyrea angustifolia* قد تكون جزيئات جديدة في الصناعات الغذائية والأدوية.

الكلمات الرئيسية:

Thymus ciliatus, *Phillyrea angustifolia*, *Globularia alypum*، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات، اختبارات كيميائية نباتية، زيت عطري.

Table Des Matières

Partie I. Introduction	
Partie II. Synthèse bibliographique	
II.1 Généralités sur les plantes médicinales.....	5
II.1.1.Qu'est qu'une plante médicinale ?.....	5
II.1.2.Les caractéristiques des plantes médicinales.....	5
II.1.3.Intérêt et Importance des plantes médicinales	6
II.1.4.Présentation des plantes étudiées	7
II.1.4.1.Le <i>Thymus ciliatus</i>	7
II.1.4.1.1.Description morphologique de <i>Thymus ciliatus</i>	8
II.1.4.1.2.Classification de <i>Thymus ciliatus</i>	8
II.1.4.1.3.Répartition géographique dans le monde	8
II.1.4.1.4.En Algérie.....	9
II.1.4.1.5.Usage traditionnel du Thym	9
II.1.4.1.6.Huile essentielle du Thym	9
II.1.4.1.7.Thymol.....	10
II.1.4.2. <i>Phillyrea angustifolia</i>	10
II.1.4.2.1.Description	10
II.1.4.2.2.Taxons supérieurs	11
II.1.4.2.3.Utilisation <i>Phillyrea angustifolia</i>	12
II.1.4.2.3. <i>Globularia alypum L</i>	13
II.1.4.2.3.1.Description	13
II.1.4.2.3.2.Taxonomie	13
II.1.4.2.3.3.Dénominations.....	14
II.1.4.2.3.4.Utilisation de <i>Globularia alypum L</i>	14
II.2.Les composés phénoliques	16
II.2.1.Les principales classes des composés phénoliques	17
II.2.1.1.Les Tanins	17
II.2.1.2.Les flavonoïdes	17
II.2.2.3.Les alcaloïdes	18
II.2.2.4.Les coumarines	19
II.2.2.5.Les anthocyanes	20
II.2.2.6.Terpènes et stéroïdes.....	20
II.2.3.Les huiles essentielles	21
II.2.3.1.Les groupes des huiles essentiels	21
II.2.3.2.Mode d'action contre les bactéries.....	21
II.3.Les activités biologiques des composés phénoliques.....	26
II.3.1.Activités antioxydant	27
II.3.1.1 Les antioxydants	27
II.3.1.3. Les principales sources d'antioxydants	27
II.3.1.4..Mode d'action des antioxydants	28
II.3.1.4.1.Inhibition enzymatique.....	30
II.3.1.4.2.Chélation des ions métalliques	30
II.3.1.4.3.Evaluation in vitro de l'activité antioxydant	30
II.3.1.4.5.Le test de piégeage de radical DPPH	30
II.3.1.4.6.Le test de la réduction de fer (FRAP).....	32
II.3.1.4.7.Le test d'inhibition de blanchiment du β -carotène	32
II.3.1.4.8.L'activité antioxydant des composés phénoliques et huile essentielles	32
II.3.2.L'activité antimicrobienne	33
II.3.2.1.Définition	34

Table Des Matières

II.3.2.2.Les alternatifs naturels	34
II.3.2.3. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne	35
II.3.2.3.1.Méthode de diffusion en milieu solide	35
II.3.2.3.2.Méthode des micros dilutions en milieu solide	35

Partie III. MATERIEL ET METHODES

III. Introduction	37
III.1.Caractéristiques écologiques de la wilaya de Saïda.....	37
III.2.Matériel végétal	38
III.2.1.Screening phytochimiques	39
III.2.1.1.Différentes classes recherchées :.....	39
III.2.1.1.1.Les tannins	39
III.2.1.1.2.Les flavonoïdes	40
III.2.1.1.3.Les anthocyanes	40
III.2.1.1.4.Les coumarines	41
III.2.1.1.5.Les alcaloïdes	41
III.2.1.1.6.Stérols et triterpènes.....	41
III.2.1.1.7.Les composés réducteurs	42
III.2.1.1.8.L'amidon	42
III.2.2.Procédure d'extraction	43
III.2.2.1.Extraction des huiles essentielle	43
III.2.3.Préparation des extraits	44
III.2.3.1.L'extrait aqueux	44
III.2.3.2. L'extrait hydroéthanolique	44
III.3.Evaluation de l'activité antioxydant.....	45
III.3.1.Dosage de l'activité anti-radicalaire (test DPPH)	45
III.4.Evaluation de l'activité antimicrobienne	46
III.4.1.Matériels biologiques.....	47
III.4.1.2.Les souches fongiques	47
III.4.1.3.Milieu de culture	47
III.4.1.4.Conservation des souches.....	47
III.4.1.5.Préparations des prés cultures	48
III.4.1.6.Préparation de l'inoculum	48
III.4.1.7.Dilution des extrait des plantes étudiées.....	48
III.4.1.8.Mode opératoire	48
III.4.1.9.La lecture des résultats.....	49

Partie IV. RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV. 1.Composition chimique et activités biologiques.....	51
IV.2.Détermination du rendement	52
IV.3. Activité antioxydant des plantes étudiées (Dpph).....	55
IV.4. Activité antimicrobienne des plantes étudiées.....	59
IV.4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	59
IV.4.2. Evaluation de l'activité antifongique.....	62

Partie V. Conclusion

PARTIE VI. Références Bibliographiques

PARTIE VII : Annexe

Partie I. Introduction

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicaments. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales dans le but de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des humains. Ces plantes médicinales sont reconnues pour leurs effets thérapeutiques et leurs caractéristiques biologiques, sous leur forme originale ou semi-synthétique, en raison de leur capacité à produire un grand nombre de métabolites secondaires (Fraga, 2007); parmi eux les terpénoïdes et les composés phénoliques (Halliwell, 2006).

Les plantes aromatiques et médicinales ont des propriétés importantes, plusieurs médicaments pharmaceutiques ont été dérivés de plantes, ces derniers passent dans l'esprit de la population pour efficacité et tolérance du fait de son origine naturel faisant partie de la médecine douce (Hami et al., 2011).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites alors actives, qu'elles renferment. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihákal., 2007).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Un grand nombre des plantes, aromatiques, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très importantes, qui trouvent des applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture (Bahorun, 1997).

Les recherches actuelles sur les molécules antimicrobiennes d'origine naturelle se concentrent principalement sur les plantes, car ils peuvent être achetés plus facilement et seront sélectionnés sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle (Yano et al., 2006).

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la mer Méditerranée et l'Afrique subsaharienne. Le Sahara le plus vaste et le plus chaud des déserts du monde possède dans sa partie nord, le Sahara septentrional renfermant une flore spontanée potentiellement riche et dont beaucoup d'espèces endémiques sont présentes. De cette flore, nous avons choisi les trois plantes endémiques *Globularia alypum*, *Thymus siliatus* et *phillyrea angustifolia*, récoltées dans la région de saida à ouled Ibrahim, Tifrit et Ain el manaa respectivement et connues pour

avoir des propriétés biologiques. C'est dans le cadre de la valorisation de notre patrimoine naturel que le présent travail s'inscrit

Le plan de notre travail est structuré comme suit :

- ❖ Une introduction générale dans laquelle la problématique est posée.
- ❖ La première partie aborde une étude bibliographique concernant les plantes médicinales en général et étudiées en particulier, les composés phénoliques et les huiles essentielles ainsi que leurs activités biologiques
- ❖ La seconde partie est réservée à l'étude expérimentale où le matériel utilisé est cité et les méthodes opératoires sont décrites.
- ❖ Dans la troisième partie, tous les résultats expérimentaux obtenus sont présentés et discutés.

Enfin, une conclusion générale vient achever ce travail renfermant également des perspectives dans le futur.

Partie II. Synthèse bibliographique

II.1 Généralités sur les plantes médicinales :

II.1.1. Qu'est qu'une plante médicinale ?

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux.

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art. Au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique. Cela était évident au début du 19^{ème} siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, la quinine...).

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algériennes dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel **(Benkiki, 2006)**.

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique ou encore sous forme de principes actifs comme matière pour l'obtention de médicaments **(Naghbi et al., 2005 ; Babulka, 2007)**.

II 1.2. Les caractéristiques des plantes médicinales :

- Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **(Omar et Mohammed El haykle, 1993)**.
- Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont **(Iserin, 1996)**

- Elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux.
- Les plantes médicinales sont de drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Omar et Mohammed El hayke,1993**).
- Environ 35000 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 (**Ahmad,1995**).

II .1.3.Intérêt et Importance des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont la principale source de médicaments et de substances actives utilisées dans la fabrication de médicaments, leur importance augmente avec l'augmentation des progrès de la civilisation, au cours des dernières décennies, la recherche pharmaceutique a décrypté la composition chimique des propriétés de nombreuses plantes médicinales. L'industrie pharmaceutique a réussi à reproduire chimiquement un grand nombre de leurs composantes et à découvrir de nouvelles combinaisons, pour le bénéfice de patients et celui des herbes ont été utilisées dans plusieurs domaines y compris la médecine, la nutrition, la teinture, les cosmétiques, ainsi que dans d'autres domaines d'industrie (**Djeridane et al., 2006**).

Un certain nombre de plantes médicinales sont encore utilisées de nos jours sous forme de décoctions et d'infusions, mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisée par nos ancêtres (**Bourrel, 1993**).

Certaines plantes sont utilisées comme traitement du rhume et de la fièvre (*Marrubium vulgare* et *Rosmarinus officinalis*), troubles d'estomac (*Mentha spicata*) (**Venderjagt et al., 2002**), dans les traitements des maladies rénales (*Coriandrum sativum*) (**Aissaoui et al., 2008**), et plusieurs d'entre elles sont utilisées pour leurs effets analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires (**Rasekh et al., 2001 ; Kanko et al., 2004**).

Quelques espèces de Helichrysum ont été utilisées pendant 2000 ans passés comme forme de thé grâce à leurs effets régulateur de la bile et diurétique (**Suzgeç et al., 2005**).

En nutrition, plusieurs espèces sont utilisées comme épice, colorant, boisson, ou encore pour leur effet aromatique (Suzgeç et al., 2005). *Hippomarathrum microcarpum* est utilisée en nutrition par la population Turque (Hakan et al., 2007).

D'autre part, il existe une augmentation en intérêt des antioxydants naturels, particulièrement ceux qui ont tendance à présumer les effets de délétion du radical libre dans le corps humain, et de prévenir la détérioration de la matière grasse et d'autres constituants de la denrée alimentaire (Bounatirou et al., 2007).

Plusieurs espèces appartenant à la famille des Lamiacée, font actuellement l'objet d'études phytochimiques visant à découvrir de nouveaux antioxydants (Hennebelle, 2006). protection des ressources naturelles (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

II.1.4.Présentation des plantes étudiées :

Les thyms (*Thymus*) sont des plantes basses sous-ligneuses, pouvant atteindre 40cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono-terpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par la rose (Soto-Mendivil et al., 2006).

II.1.4.1.Le *Thymus ciliatus* : l'origine du nom sujette à diverses interprétations : Thym proviendrait du mot latin "thymus" qui signifie "parftimé".Thym à partir du mot grec "thymus" qui signifie "courage" . Le thym appartient à la famille des labiées, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde (Ebrahimi et al., 2008).



Figure1 : *Thymus ciliatus*

II.1.4.1.1. Description morphologique de *Thymus ciliatus* :

Le *Thymus ciliatus* est une espèce spontanée, c'est un arbrisseau de petite taille, mais pouvant former des touffes bien étalées sur le sol ; les feuilles florales sont différentes des feuilles caulinaires, en général fortement dilatées à leur portion inférieure. Rencontrée dans les broussailles, matorrals, sur substrats calcaires et siliceux et sur sols rocailloux et bien drainés, la plante se répartit sur (Benabid, 2000).

II.1.4.1.2. Classification de *Thymus ciliatus* :

Embranchement : Phanérogames.

SousEmbranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

SousClasse : Gamopétales.

Série : Gamopétales Hypogynes.

Sous Série : DivisionBicarpétalées.

Ordre :Tubiflorales.

Sous-ordre :Lamiales.

Famille : Labiées.

Genre : *Thymus*.

Espèce :*Thymus ciliatus*.

II.1.4.1.3. Répartition géographique dans le monde :

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Naghibi et al., 2005). Selon Dob et al. (2006), il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la Méditerranée. C'est une plante très répandue dans le nord ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye). Elle pousse également sur les montagnes d'Éthiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya.

Selon une étude menée par **Nickavar et al., (2005)**, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre.

II.1.4.1.4.En Algérie:

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales au regard de sa superficie et sa de diversité bioclimatique. Le *Thymus* de la famille des Lamiacées ou Labiées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (**Saidj et al., 2006**). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement.

II.1.4.1.5. Usage traditionnel du Thym :

C'est une plante aromatique très odorante, utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

- Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (**Hans, 2007**).

II.1.4.1.6. Huile essentielle du thym :

L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (**Rasooli et al., 2006 ; Naghdi et al., 2004**). Les huiles essentielles de thym sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure.

La variabilité chimique des huiles essentielles de thym dépend de plusieurs facteurs qui sont généralement d'ordres climatiques et environnementaux mais, qui peuvent être aussi d'ordres génétique et saisonnier (stade végétale) (**Loziene et al., 2007**). Ainsi, une étude menée par **Dob et al., (2006)** sur les *Thymus* d'Afrique du Nord a montré que le composé majoritaire est le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie.

II.1.4.1.7. Thymol :

Le thymol est l'un des principaux phénols reconnus dans l'huile essentielle de quelques lamiacées comme le thym, l'origan et la sarriette dont le contenu peut atteindre jusqu'à 84% (**Kaloustian et al., 2008**). Le thymol a été découvert par **Caspar Neumann** en 1719 et épuré en 1853 par M. Lallemand qui lui a donné le nom « thymol » et lui a attribué la formule $C_{20}H_{14}O_2$ formule qui aujourd'hui, correspond à $C_{10}H_{14}O$ de la nouvelle notation. Le thymol est un phénol (2-isopropyl-5-méthyl-phénol) et est isomérique avec le carvacrol (2-isopropyl-5-méthyl-phénol).

Le thymol existe dans l'huile de thym et est lié à d'autres hydrocarbures d'une plus grande volatilité comme le p-cymène ($C_{10}H_{14}$) et le thymène ($C_{10}H_{16}$) (**Pauli et Knobloch 1987**).

Plusieurs études ont montré que le thymol possède de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antispasmodique, antimicrobienne, fongicide, insecticide, antioxydant, anti-cancérogène et anti-inflammatoire (**Ipek et al., 2005 ; Szentandrassy et al., 2003**).

II.1.4.2. *Phillyrea angustifolia* :

II.1.4.2.1. Description :

Le *Phillyrea angustifolia* est un arbuste persistant de la famille des oleaceae un petit arbre d'origine méditerranéenne que l'on rencontre sur les sols pierreux de la garrigue et dans les bois. Son allure est assez proche de celui de l'olivier, en plus petit : un tronc court, des rameaux longs et minces, et un port compact et buissonnant de 1 à 3 mètres de haut.

Par rapport aux feuilles de couleur gris argenté des olives, la *Phillyrea angustifolia* a des feuilles étroites, vert foncé et coriaces. À la fin du printemps, au début de l'été, les fleurs blanc crème légèrement parfumées apparaissent en petites grappes serrées à l'aisselle des feuilles, suivies de fruits globuleux bleu/noir.

La floraison est précoce dès le mois de mars. Il rappelle un peu aussi l'olivier de Bohême. (**Gerbeaud.com**)



Figure 2 : *Phillyrea angustifolia* (originale, prise le 16 Janvier 2022 à Ain el manaa, Saida)

II.1.4.2.2. Taxons supérieurs :

Ordre : Lamiales

Famille : Oleaceae

Genre : *Phillyrea*.

Nom commun masculin :

Filaire ou Filaria à feuilles étroites

✓ **Origine :**

Bassin Méditerranéen

✓ **Mode de multiplication :**

Bouturage.

✓ **Destination :**

Isolé, rocaille, haie basse, massif d'arbustes ou bac.

Qualité du sol :

Il est relativement peu exigeant en matière de terre, du moment qu'elle est bien drainée et assez humifère.

Il accepte bien les terres calcaires.

.En cas de culture en bac, mettre des gravillons dans le fond pour assurer un bon drainage.

✓ **Amendement et Fertilisation :**

Faire un apport de fumier ou de compost décomposé à la plantation.

Tous les ans, au printemps, effectuer un apport d'engrais pour arbres.

✓ **Maladies :**

Résistant.

Voisinage propice – Plantes compagnes :

C'est un bon compagnon pour les autres arbustes.(<http://www.homejardin.com>)

II.1.4.2.3.Utilisation *Phillyrea angustifolia* :

- Les Phillyrea sont très résistants aux maladies et aux parasites quelconques.
- Il est utilisé comme coupe-vent et bloqueur de clôture dans les zones sèches chaudes et tempérées.
- Il est utilisé dans les jardins comme clôture décorative avec une odeur agréable
- Il est utilisé en médecine pour traiter de nombreuses maladies, notamment les maladies de la gorge, du cœur, des artères et des reins.
- Les feuilles sont utilisées comme aliments pour animaux.

II.1.4.2.3. *Globularia alypum* L :

II.1.4.2.3.1. Description :

La plante *Globularia alypum* autrement appelée Globulaire est une plante classique appartenant à la famille des Globulariacées comprend deux genres dont *Globularia* et *Poskea* et d'environ trente espèces répartis en Europe et en Afrique du nord (Quezel et Santa, 1963). Son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec alypon qui signifie calmer la douleur. *Globularia alypum* appelée communément Tasselgha (Beniston et Beniston, 1984) ; « Chebra », « Chelr'a », « Zerga », « zeriga », « zouitna », « alk », « haselra », « oulbarda » (Chograni et al., 2011).



Figure 3 : *Globularia alypum* L (originale, prise le 10 Janvier 2022 à Ouled Ibrahim, Saida)

II.1.4.2.3.2. Taxonomie :

La classification de *Globularia alypum* est :

Règne : Plantae .

Sous-règne : Tracheobionta .

Division : Magnoliophyta .

Classe : Magnoliopsida .

Sous-classe : Asteridae .

Ordre : Scrophulariales .

Famille : Globulariaceae .

Genre: *Globularia*

Espèce : *Globularia alypum* L. (Quezel et al., 1963).

II.1.4.2.3.3.Dénominations:

-Nom scientifique : *Globularia alypum* L. (Quezel et al., 1963).

-Nom berbères : *Aselgha, Tasselra, Taselga, Selga.* (Jouad et al., 2002).

-Nom vernaculaire arabe: Chebra (Quezeletal., 1963).Chebra, Chelr'a, Zerga, zeriga, zoutna, alk, haselra, oulbarda(Chograni et al., 2011).

-Nom français : Globulaire (Kaddem, 1990).Globulaire buissoante, Globulaire turbith, Turbith, Turbith blanc, Séné de provence, Alypon, Herbe terrible (Fournier, 2010;Couplan, 2012; Ait Youssef, 2006).

Les plantes du genre *Globularia* sont vivaces arbustes rameux d'environ 60 cm de hauteur (30-60cm), à feuilles alternes, dont les fleurs groupées en capitules plus ou moins globuleux entourés de bractées. Les fleurs ont une corolle à deux lèvres, la supérieure bilobée souvent atrophiée, l'inférieure trilobée. Elles sont en général bleues, à quatre étamines (Leporatti et Ghedira, 2009). Les feuilles toutes éparses sur les rameaux, coriaces, persistantes, glauques, de forme ovale ou oblongue, atténuées en court pétiole et disposées le long et au sommet des tiges très rameuses en buisson et ordinairement dressées(Beniston et Beniston, 1984).

II.1.4.2.3.4.Utilisation de *Globularia alypum* L:

Cette plante est connue pour ses utilisations dans le traitement de l'hypoglycémie, rhumatismale, maladies de l'estomac et infectieuses (Djeridane et al., 2006). De plus, ses feuilles sont souvent utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète, des maladies rénales et cardiovasculaires, de la goutte, de la typhoïde et de la fièvre intermittente (Fehri et al., 2012). Son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec *alypon* qui signifie calmer la douleur (Jouad et al., 2002; Es-safiet al., 2005). L'étude de la composition chimique de la plante a été réalisée dans un but de

Partie II. Synthèse bibliographique

découvrir les principaux produits naturels responsables de ces différentes activités thérapeutiques. Plusieurs composés ont été isolés et caractérisés de genre *Globularia*. Ces composés sont essentiellement des flavonoïdes, des polyphénols, des tannins, des anthocyanines (**Khelifi et al., 2011 ; Boussoalim.,2014**). La présence de globularine, de résine, de mucilages, de tanins, de choline, de chlorophylle, d'acide-cinnamique, d'acide globularique a été démontrées (**Chograni et al., 2013 ;Kada.,2018**) .

II.2. Les composés phénoliques :

L'intérêt pour les composés phénoliques a augmenté au cours de la dernière décennie en raison de leur activité structurale et protectrice dans les plantes, mais aussi en raison des effets anti-allergéniques, antiathérogènes, anti-inflammatoires, antimicrobiens, anti-thrombotiques, cardio protecteurs et vasodilatateurs qu'ils présentent chez les animaux (Balasundram et al., 2006).

les composés phénoliques constituent l'une des grandes familles de molécules largement répandues dans le règne végétal (Beta et al., 2005). Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Cette désignation concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques respectivement (Macheix, et al., 2005).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

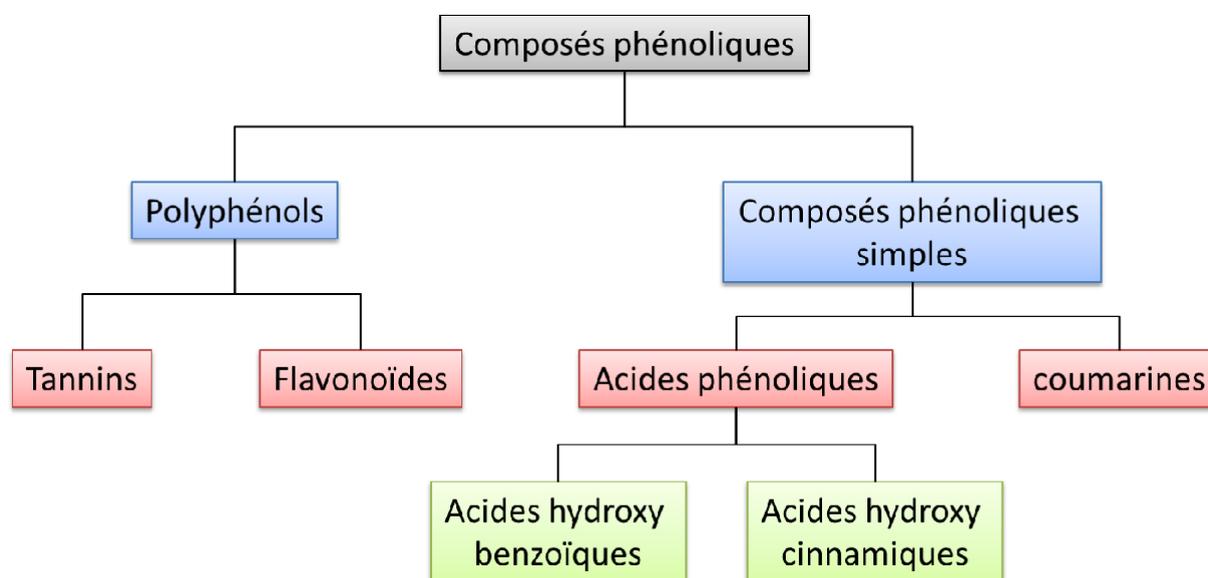


Figure 04 : Schéma de classification des composés phénoliques .

II.2.1. Les principales classes des composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides (Brineton, 1999)

II.2.1.1. Les Tanins :

Ils sont d'origine végétale et non azotée qu'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et les feuilles de thé. Se sont des composés poly phénoliques, solubles dans l'eau de masse molaire entre 500-2000D, de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines (Vermirris et al., 2006).

Utilisées depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique importante parmi les caractéristiques des tanins le goût astringence qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et qui crée une sensation d'assèchement dans la bouche (Peronny, 2005).

Ils sont classés en deux groupes selon leur structure chimique :

- **Tanins condensés (proanthocyanidines)** : ce sont des polymères de flavanols. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone de type C4-C8 ou C6-C8, on les appelle également proanthocyanidines, largement présents dans le règne végétal, et que l'on rencontre dans de nombreux produits alimentaires (prunes, fraises et pommes ou des boissons ...) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).
- **Tanins hydrolysables** : Ce sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes (tannase) en ose (généralement le glucose) et en acides phénols. Selon la nature de l'acide phénol qui est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxy diphénique et ses dérivés dans le cas des tanins éllagiques (Bruneton, 1999).

II.2.1.2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universel des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils

constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (**Ghedira, 2005**), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leurs molécules, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (**Toufeksian et al, 2008**).

Aujourd'hui plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés et il en reste des milliers d'autres à découvrir puisque le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl et isoprényle (**Beecher, 2003 ; Williams et Grayer , 2004 ; Kueny-Stotz, 2008**).

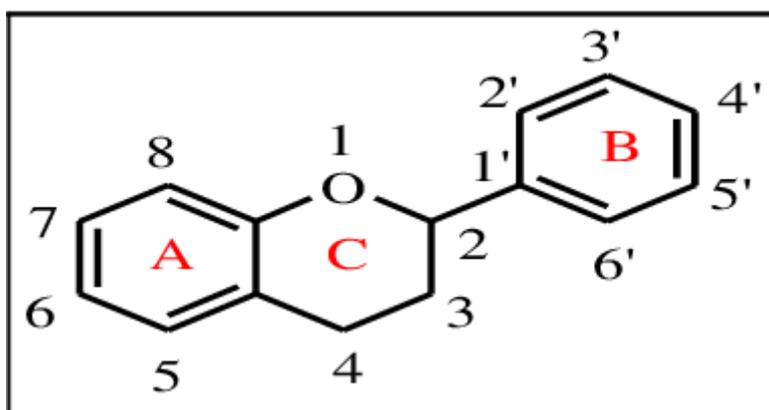


Figure 05 : Squelette de base des flavonoïdes

II.2.2.3. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine naturelle ; le plus souvent végétales, azotés, basiques, doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées (**AZZI.R, 2013**).

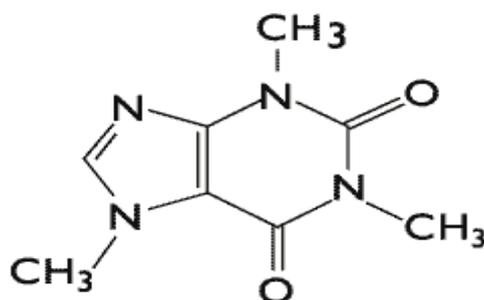


Figure 06 : Structure d'alcaloïde

Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner

avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de : Réactif silicotungstique : réactif de Bertrand .Réactif tétraiodomercure de potassium : réactif de Valser –Mayer, Iodobi smuthate de potassium :réactif de Dragendorff.

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe des métabolites secondaires d'un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine...). Au niveau du système nerveux autonome comme sympathomimétiques (éphédrine), anti cholinergiques (antropine). Certains jouent le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne) , d'antipaludiques (quinine) (AROUS.S ,2012).

II.2.2.4. Les coumarines :

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Willd, famille des fabacées) d'où fut isolée, en 1820, la coumarine. Les coumarines sont des 2 H-1-benzopyran-2-ones qu'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-Z-cinnamiques. Elles sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés avec lesquels on peut les extraire. Les formes hétérosidiques sont plus au moins solubles dans l'eau (Macheix.J *et al* ,2005)

La coumarine est connue pour ses propriétés anti-œdémateuses, a fait l'objet d'étude clinique chez des patients atteints de cancers avancés ; elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique (Benmahdi .H ;2002).

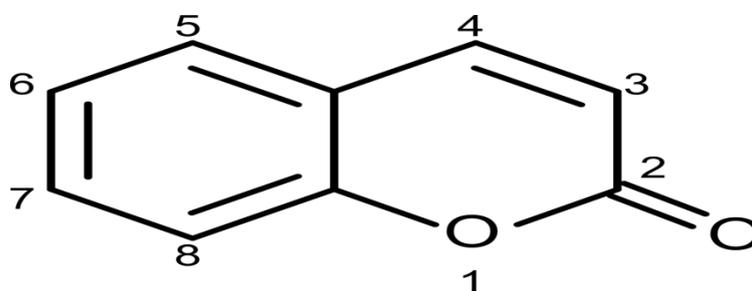


Figure 07 : Structure des coumarine

II.2.2.5. Les anthocyanes :

Les anthocyanes ou pigments anthocyaniques sont des composés hydrosolubles, de teinte rouge, violette ou bleue. Ils colorent généralement les fleurs, les fruits et parfois les feuilles.

Les anthocyanes sont présentes dans la nature uniquement sous forme d'hétérosides appelés anthocyanosides ou anthocyanines. Les génines Anthocyanidines ou anthocyanidols sont des dérivés du phényl-2-benzopyrylium ou flavylium (où l'oxygène est sous forme oxonium) présents dans la plante sous forme de sels (**Bassas et al,2007**)

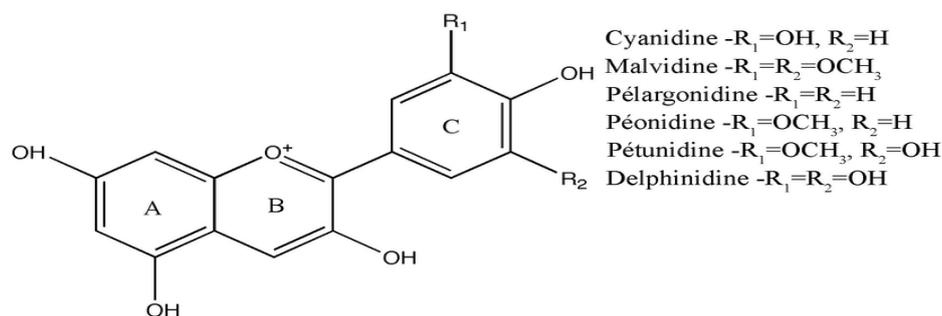


Figure 08: Structure des principaux anthocyanes

II.2.2.6. Terpènes et stéroïdes :

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule (C₅H₈)ⁿ selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes (**Wichtl et Anton, 2009**). Les molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol). Chez toutes les plantes on trouve ces composés liées avec un groupement alcool, nommés 'stérols' prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme : B-Sitostérol, Stigmastérol (**Hopkins, 2003;Kadri et Abdoullahi, 2019**).

II.2.3. Les huiles essentielles :

Une huile essentielle est un mélange complexe de composés naturels de structures organiques variées. Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales. Le terme “huile” vient de leur caractère hydrophobe et de leur propriété de se solubiliser dans les graisses, alors que le terme “essentielle” fait référence à l’odeur dégagée par la plante productrice. Les huiles essentielles sont bio synthétisées comme métabolites secondaires par des plantes odorantes, dites aromatiques. Ces plantes se caractérisent par la présence de structures sécrétrices des huiles essentielles dans presque tous les organes du végétal (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...). Il s’agit de structures histologiques sécrétrices spécialisées qui diffèrent selon l’organe végétal considéré et qui sont souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. Ces structures sont également impliquées dans le stockage de ces huiles. **(Isman MB. Plant essential oils for pest and disease management. CropProt 2000 ; 19 : 603-8.)**

II.2.3.1. Les groupes des huiles essentiels :

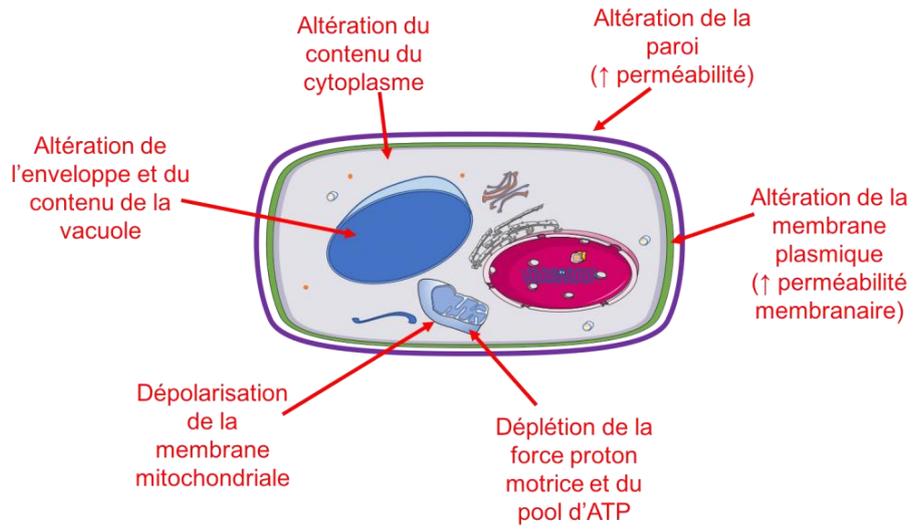
Sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée :

- Il s’agit des terpènes et de leurs dérivés oxygénés (alcools, aldéhydes, esters, éthers, cétones, phénols et oxydes) prépondérants dans la plupart des huiles essentielles,
- Des dérivés du phénylpropane retrouvés en tant que composés majoritaires dans les huiles de quelques espèces.

II.2.3.2. Mode d’action contre les bactéries :

D’une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l’huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l’intérieur de la cellule, bloquant la production de l’énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.



Figures09 : mode d'action contre les bactéries.

II.3. Les activités biologiques des composés phénoliques :

Les composés phénoliques font l'objet d'un intérêt scientifique croissant en raison de leurs Effets bénéfiques possibles sur la santé humaine. Ils sont reconnus pour leurs activités biologiques nombreuses à savoir : activité antibactérienne, anticancéreuse, antifongique, analgésique et diurétique (**Dorman et Deans, 2000**). Comme Ils possèdent une activité antioxydant, anti-inflammatoire et anti-âge (**Benavente-García et Castillo, 2008**).

Vers la fin du XXe siècle, des études épidémiologiques et des méta-analyses associées suggèrent fortement que la consommation de composés phénoliques, et plus spécifiquement de flavonoïdes, offre une certaine protection contre le développement de cancers (**Nichenametla et al., 2006**), de maladies cardiovasculaires (**Kris-Etherton et al., 2002**), de diabète, d'ostéoporose et de maladies neuro dégénératives (**Graf et al., 2005; Arts et Hollman, 2005**). Ces vertus thérapeutiques sont due à leurs propriétés antioxydants (**Fleuriet et al., 2005**)

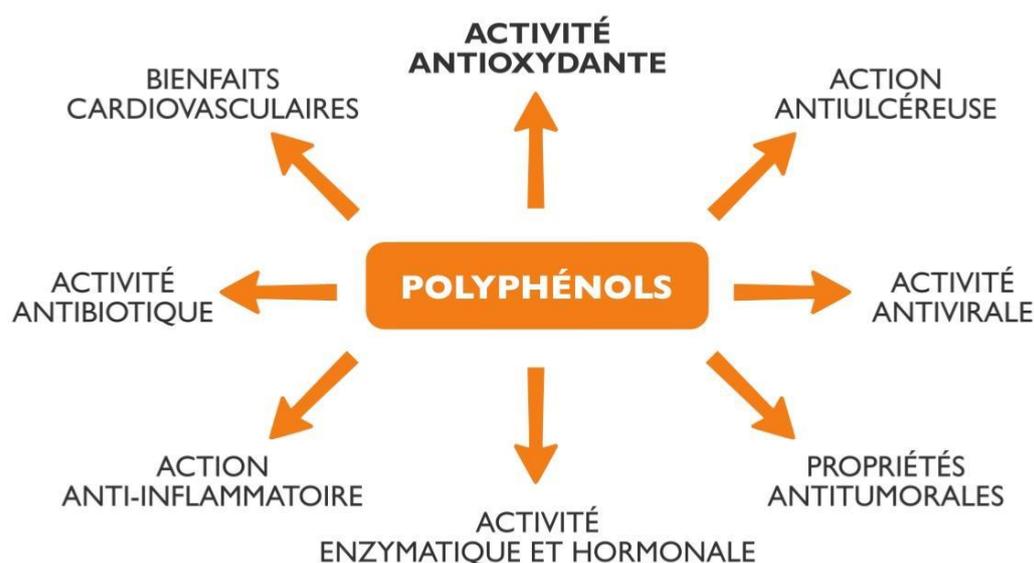


Figure 10 : Effets bénéfiques des poly phénols végétaux sur la santé.

Les composants phénoliques présents dans les huiles essentielles sont connus pour posséder une activité antimicrobienne et certains sont classés comme des substances reconnues comme généralement sûres (GRAS) et pourraient donc être utilisés pour prévenir la croissance post-récolte des bactéries natives et contaminants (**Singh et al., 2001**). Les huiles essentielles possèdent aussi des propriétés antitoxique, antivenimeuse, antiviral, antiparasitaire et antioxydant (**Valnet, 2005**).

II.3.1. Activités antioxydant :

II.3.1.1 Les antioxydants :

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes et de métaux de transition (**Ekoumou C., 200**) Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène singulet O₂, le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, les peroxydes alkyles ROOH, le radical superoxyde O₂, les radicaux hydroxyles HO, peroxydes ROO et alkoxyles RO .Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines(**Ahamet S., 200**).

II.3.1.2 Mécanismes d'action des radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ce sont des atomes et des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent. Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygène, hydroxyde et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient.

L'organisme sait cependant se défendre contre eux, grâce aux enzymes antioxydants contenues dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action anti radicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium. Si ces systèmes de défense sont débordés ou insuffisants, les radicaux libres ont tout le loisir d'être nuisibles : ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés sont dénaturés (leur structure est modifiée); ils agressent également les protéines, les micro fibrilles de collagène, l'acide hyaluronique, les acides nucléiques des chromosomes et l'ADN lui-même est transformé entraînant l'apparition d'où une série d'anomalie dont le risque de cancérisation. Lorsque les radicaux libres lèsent les acides gras insaturés on parle de lipidoper oxydation des membranes cellulaires. Cela déclenche alors une réaction en chaîne sur les divers acides gras du voisinage jusqu'à ce qu'ils soient neutralisés.

Il en résulte des lésions de la membrane cellulaire, qui peuvent aboutir à des dérèglements d'intensité variable, conduisant éventuellement à la mort cellulaire. Ils ont un

effet analogue sur les mitochondries, les enzymes cellulaires, les chromosomes, le collagène et l'acide hyaluronique. Au cours de la vie nous sommes soumis à des millions de circonstances favorisant la production de ces radicaux libres, particulièrement néfastes pour la peau.

Les métabolites secondaires inhibent les générations des radicaux libres en piégeant non seulement la mère, la fille mais aussi les produits en induisant une augmentation de la SOD, CAT, la GST et la GSH, ce qui entraîne l'obstruction de la formation de diverses maladies. Il est indéniable que les poly phénols présentent d'importantes propriétés sur divers systèmes biologiques. Ces effets pourraient avoir des applications en thérapeutique. Mais toutes ces potentialités ne sont pas encore concrétisées même si de nombreux travaux soutiennent l'utilisation possible de ces composés en thérapeutique. Cependant, les dérivés de la rutine sont utilisés en thérapeutique pour améliorer la résistance capillaire. Les flavonoïdes sont les constituants habituels des vasculo protecteurs et veinotoniques utilisés en phlébologie. Par ailleurs, l'utilisation de plantes renfermant des flavonoïdes, seules ou en association, est en progression constante en raison d'une demande croissante par les consommateurs de produits d'origine naturelle et en raison de l'intérêt porté aux plantes aussi bien médicinales qu'alimentaires contenant cette classe de composés d'origine naturelle ayant des propriétés justifiant leur emploi dans la prophylaxie des maladies cardiovasculaires, Alzheimer, des cancers...

II.3.1.3. Les principales sources d'antioxydants :

Certaines classes thérapeutiques telles que les AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien), les anti hyper lipo proteinémiques, les β -bloquants et antihypertenseurs sont connus pour leurs propriétés antioxydants .

Le plus simple des capteurs des radicaux libre est l'alcool éthylique, agent de transfert d'hydrogène qui conduit à un composé biologiquement compatible, l'acétaldéhyde, bio oxydable par la chaîne enzymatique avec production d'énergie.



a) Les médicaments

Certains médicaments (exemple du probucol (lurselle)) fait diminuer le taux du cholestérol dans le sang et, la N- acétylcystéine agit dans la régénération du glutathion en

pénétrant les cellules. Les propriétés de la glutathionne ont été reconnues lors d'études sur les phospholipides des feuilles de certains végétaux. En effet les thiols sont beaucoup plus actifs que les hydrocarbures, les alcools ou les phénols comme agents de capture radicalaire [183].



La capacité de protection de la glutathionne est jugée supérieure à celle d'un antioxydant aussi puissant que l' α -tocophérol. On observe in vitro, que la glutathionne introduit une période d'induction à la prise d'oxygène par l'hémoglobine et retarde l'oxydation de la fraction hydrocarbonée insaturée des lécithines (esters insaturés d'acide gras de phospholipides) et de l'aniline [184].

b) Les vitamines

- Acide ascorbique : Vitamine C

La Vit C contient une forme énediol qui produit la forme di cétonique par transferts successifs de ses deux atomes d'H. La forme énediol est régénérée par l'intervention d'enzyme superoxydedismutase en présence d'une catalase. On trouve la vitamine C dans les légumes, les choux, le poivron, le persil, les agrumes et le kiwi. Elle joue un rôle important dans la régénération du vit E [185].

- La vitamine E

Elle semble devoir fixer le radical hydroxyle avec formation d'une molécule d'ouverture de cycle. On la retrouve dans les huiles végétales (arachides, soja, chardon, tournesol, olive pressé à froid), les amandes, les graines, le lait, les œufs, les légumes à feuilles vertes.

- β -carotène

Parmi les photo-protecteurs actifs, le β -carotène apparaît comme un piègeur efficace. Sa constitution polyénique lui confère une capacité de piégeage de l'oxygène par formation d'un dioxétane (addition d'une oléfine et d'une molécule d'oxygène) ou par production d'hydroperoxydes (insertion d'oxygène dans toutes liaisons C-H conjuguées d'une double liaison) susceptibles d'être réduits à leur tour. Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye .

c) Les antioxydants naturels

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont des composés phénoliques (flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acide phénolique, tanins, anthocyanines,...)

II.3.1.4. Mode d'action des antioxydants :

Les antioxydants peuvent agir selon divers mécanismes d'activité d'oxydation et avec plus d'un mécanisme ce qui ne facilite pas leur classification (**Frankel et Meyer, 2000**).

II.3.1.4.1. Inhibition enzymatique :

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber plusieurs enzymes génératrices du O₂ et d'autres ERO, comme la xanthine oxydase (formation de complexes enzyme-inhibiteur), la protéine kinase C, la cyclooxygénase, la lipooxygénase, la monooxygénase microsomal et la glutathion S- Transférase. Les flavonoïdes présentant un cycle B de type catéchol (ortho-diphénol ou 1,2- dihydroxybenzène) inhibent la succinoxidase mitochondriale et la NADH oxydase (**Pietta, 2000**).

II.3.1.4.2. Chélation des ions métalliques :

Les flavonoïdes (tels la quercétine) peuvent chélater les ions fer et cuivre qui sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques (**Cuyckens et Claeys, 2004**). Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant. Ainsi, les ions fer sont nécessaires pour la biosynthèse de la catalase, et ceux cuivrique pour la formation du superoxydedismutase. Les sites de liaison proposés pour chélater les traces de métaux par les flavonoïdes sont la fraction catéchol dans le cycle B, le 3hydroxyl, les groupes 4-oxo dans le noyau hétérocyclique, et les 4-oxo, les groupes 5-hydroxy entre l'hétérocycle et le cycle A.

II.3.1.4.3. Evaluation in vitro de l'activité antioxydant :

Diverses méthodes sont utilisées pour étudier les propriétés antioxydants des échantillons (extraits de plantes, antioxydants commerciaux...etc.). L'activité antioxydant ne devrait pas être conclue sur la base d'un seul modèle d'essai antioxydant. Et en pratique, plusieurs procédures de test in vitro sont effectuées pour évaluer les activités antioxydants

avec les échantillons d'intérêt. Ces analyses diffèrent entre eux en terme de mécanismes de réaction, oxydants et espèces cibles (les sondes), états des réactions et la forme dont sont exprimés les résultats. En plus, même lorsque seulement une de ces analyses est envisagée, ça engendre d'autres paramètres à prendre en considération tels que : le solvant, le temps de réaction et le pH (Magalhães et al., 2008).

Par conséquent, il est difficile de comparer complètement une méthode à l'autre (Alam et al., 2013). On va citer quelques tests :

II.3.1.4.5. Le test de piégeage de radical DPPH :

La molécule 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl est caractérisée comme un radical libre stable en raison de la délocalisation de l'électron de rechange sur la molécule dans son ensemble, de sorte que la molécule ne se dimériserait pas, comme ce serait le cas avec la plupart des autres radicaux libres.

La délocalisation de l'électron donne également naissance à la couleur violette profonde, caractérisée par une bande d'absorption dans une solution d'éthanol ou méthanol se situe vers 515-517 nm. Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à celle d'un substrat (AH) qui peut donner un atome d'hydrogène, alors cela donne la forme réduite avec la perte de cette couleur violette (Gouveia et Castilho, 2012).

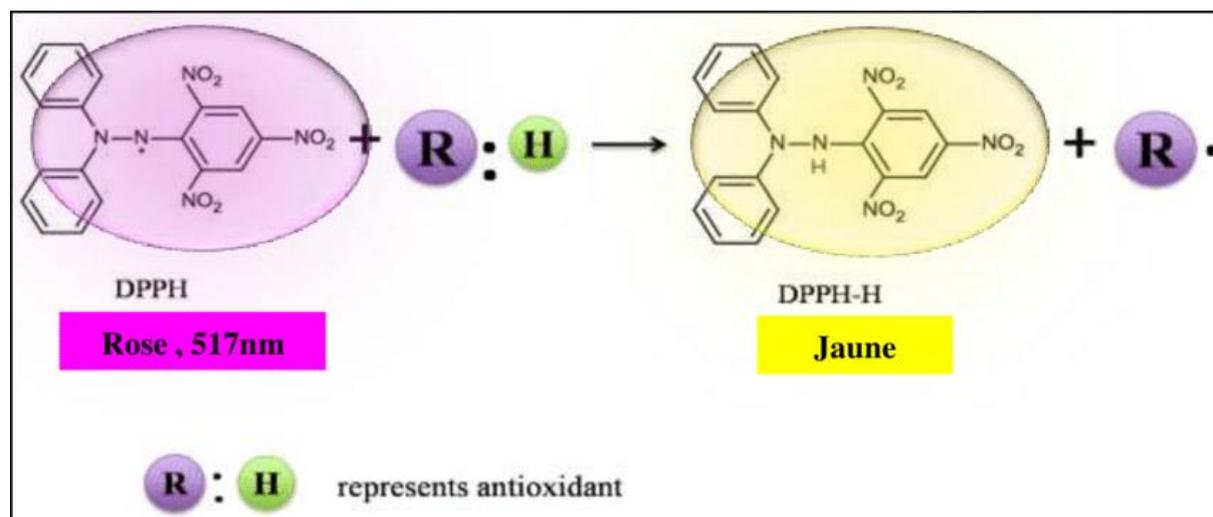


Figure11 : Principe du test DPPH.

II.3.1.4.6. Le test de la réduction de fer (FRAP) :

Cette méthode mesure la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique. Il est basé sur la réduction du complexe ferrique de la tripyridyl-s-triazine 2.4.6 [Fe (III) - (TPTZ) 2]3+ au complexe ferreux coloré par le bleu [Fe (II) - (TPTZ) 2]2+ à faible pH (Alam et al., 2013). Cette réduction est suivie en mesurant le changement d'absorption à 700 nm (Oyaizu, 1986).

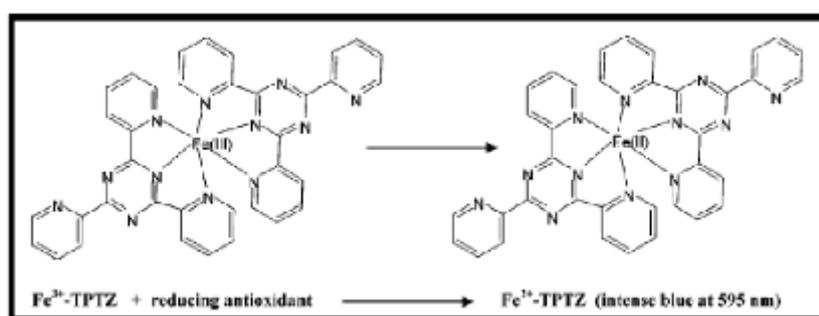


Figure 12: Principe réactionnel du test FRAP (Toure, 2015)

II.3.1.4.7. Le test d'inhibition de blanchiment du β -carotène :

C'est l'une des méthodes rapides de criblage des antioxydants, basée principalement sur le principe que l'acide linoléique, qui est un acide gras insaturé, est oxydé par les «espèces réactives de l'oxygène» (ROS) produites par l'eau oxygénée. Les produits formés initieront l'oxydation du β -carotène, ce qui conduira à une décoloration. Les antioxydants diminuent l'ampleur de la décoloration, qui est mesurée à 434 nm (Alam et al., 2013).



Figure 13 : Principe du test de blanchiment du β -carotène.

II.3.1.4.8. L'activité antioxydant des composés phénoliques et huiles essentielles :

Les poly phénols constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. ils n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine, contrairement aux antioxydants synthétiques comme le

butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) (*Bounatirou et al., 2007*). Les acides phénoliques, les flavonoïdes sont les composés phénoliques de plantes qui possèdent des capacités de piégeage des radicaux libres, inhiber l'oxydation lipidique et prévenir les dommages oxydatifs de l'ADN (*Yu-Ling Lee et al., 2008*).

Les propriétés antioxydants des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées. Les huiles essentielles de cannelle, de muscade, de clou de girofle, d'origan et de thym possèdent de puissants composés antioxydants (*Edris, 2007*). L'efficacité antioxydant des huiles essentielles peuvent être liée à l'activité de certain type de composés tels que les mono terpènes oxygénés, en particulier les alcools et les phénols (*Bourgou et al., 2008*). De même, le terpinène-4-ol, géraniol, eugénol et thymol semblent avoir une activité anti-radicalaire intéressante (*Dorman et Deans, 2000*).

L'activité antioxydant des huiles essentielles est également attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques : le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/néral, le citronellal, et quelques monoterpènes : γ -terpinène et l' α -terpinolène (*Edris, 2007*).

II.3.2.L'activité antimicrobienne :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires comme les *Pseudomonas* et les *Bacillus* classés parmi les procaryotes, elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria, elles ont généralement un diamètre inférieur à 1 μ m. Leurs structures sont visibles qu'en microscopie électronique.

Elles sont cultivées dans des milieux liquides (bouillons) dont les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Ou dans des milieux solides dont elles forment un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie ce dernier milieu permet le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (*Nauciel et Vildé, 2005*).

Le terme « moisissure », est communément utilisé pour désigner tout micro-organisme fongique, c'est des champignons microscopiques par exemple les *Fusarium* et les *Aspergillus*, eucaryotes, hétérotrophes de très petites tailles ne pouvant se développer que dans une cellule vivante, généralement les aliments sont les substrats les très favorables à leur développement (*Cahagnier, 2018*).

II.3.2.1. Définition :

Le terme antimicrobien fait référence à un ensemble de composés qui ont la capacité d'éliminer ou de réduire la prolifération de microbes. Les microbes visés par un antimicrobien peuvent être des bactéries, des virus, des mycètes ou des parasites. Les traitements antibiotiques font partie également des antimicrobiens. Ils ciblent les champignons ou les bactéries.

L'utilisation des antibiotiques qui sont par définition, des produits microbiens, capables de tuer les micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance (**Perscott et al., 2018**), conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection des populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition des gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles. Ces résistances ont conduit à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possèdent une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien acceptés par l'organisme d'autre part l'exemple des alternatifs naturels (**Garcia-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni., 2014**).

A cet effet, dans notre cas on a utilisées des extraits et de l'huile essentielle, car les études montre que l'huile essentiel de *Thymus cilaitus* est active contre différents souches parce que une plante endémique algérien d'une part, et par leur richesse en HE phénoliques d'autre part. et constitue une source incontournable de molécules bioactives. Ainsi, elle pourrait contribuer à lutter contre les infections .

II.3.2.2. Les alternatifs naturels :

La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Suite à cette préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre les infections bactériennes, il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antibiotiques classiques.

Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les poly phénols, les flavonoïdes, les tanins, etc, qui possèdent des activités antimicrobiennes. (**Boutlelis, 2014**).

II.3.2.3. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne :

II.3.2.3.1. Méthode de diffusion en milieu solide :

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des germes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques et des extraits bruts. La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de culture ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration devient très diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la souche testée, la zone d'inhibition est démarquée (*El Kalamouni, 2010*)

II.3.2.3.2. Méthode des micros dilutions en milieu solide :

La méthode de dilution en milieu solide consiste à incorporer l'antibiotique à une concentration finale donnée dans du milieu de culture standard gélosé maintenu en surfusion à 45°C. Une série de boîtes de Pétri est préparée avec des concentrations d'antibiotique variant selon une progression géométrique de raison.

Les inocula des différentes souches à tester sont réalisés sur les différentes boîtes de Pétri contenant les différentes concentrations de l'antibiotique à tester. L'inoculum standard est un dépôt d'environ 10^2 bactéries (à partir d'une suspension ajustée) pour la plupart des souches).

Les boîtes ensemencées sont incubées. La lecture est alors effectuée : il s'agit de repérer l'emplacement de chaque souche et de noter une croissance visible ou une absence de croissance visible.

Partie III. Matériel et Méthodes

III. Introduction

L'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien a une couverture végétale diversifiée répartie sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, le Sahara et autour des points d'eau (**Hamel et al., 2018**). Ces plantes représentent une source de composés bioactifs et sont utilisées dans différents domaines.

A cet effet, on s'est intéressé à étudier les extraits aqueux et hydro éthanoliques des plantes *Phillyrea angustifolia* et *Globularia alypum* Sachant que des expériences d'extraction d'huile de ces plantes ont déjà été menées, et que l'huile n'a pas été obtenue, nous sommes donc passés aux extraits et l'huile essentielles de *Thymus ciliatus* ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques (antioxydant, antibactérienne, antifongique).

Notre étude a comme objectif de vise les principaux axes suivants :

- Faire un screening phytochimique afin de déterminer les différentes familles des composés chimiques qui existent dans nos plantes.
- Extraire l'huile essentielle et quelques extraits afin de les mettre en évidence par des tests biologiques.
- Evaluer le pouvoir antioxydant de nos extraits par la méthode de piégeage des radicaux libre(DPPH).
- Evaluer l'activité antibactérienne et antifongique contre 8 souches bactériennes et 6 souches fongiques.

III.1.Caractéristiques écologiques de la wilaya de Saïda :

La wilaya de Saïda couvre une superficie totale de 6765 km², localisée au Nord-ouest de l'Algérie. La wilaya de Saïda est constituée de six daïras et de seize communes, qualifiée de territoire hybride, ni franchement steppique, ni franchement tellien (**ANAT, 2008**).

Le territoire de la wilaya se distingue par une palette d'entités géologique, géomorphologique, hydrogéologique, bioclimatique, pédologique et sociale en plus des richesses naturelles importantes et variées (**Skim F, 1998**). Dans les temps historiques, cette position de contact a fait vivre la région d'échanges avec la steppe et les régions présahariennes, cette économie d'échange très largement ouverte sur le Sud, convenait parfaitement au type de ressources qu'offre le territoire de la wilaya.

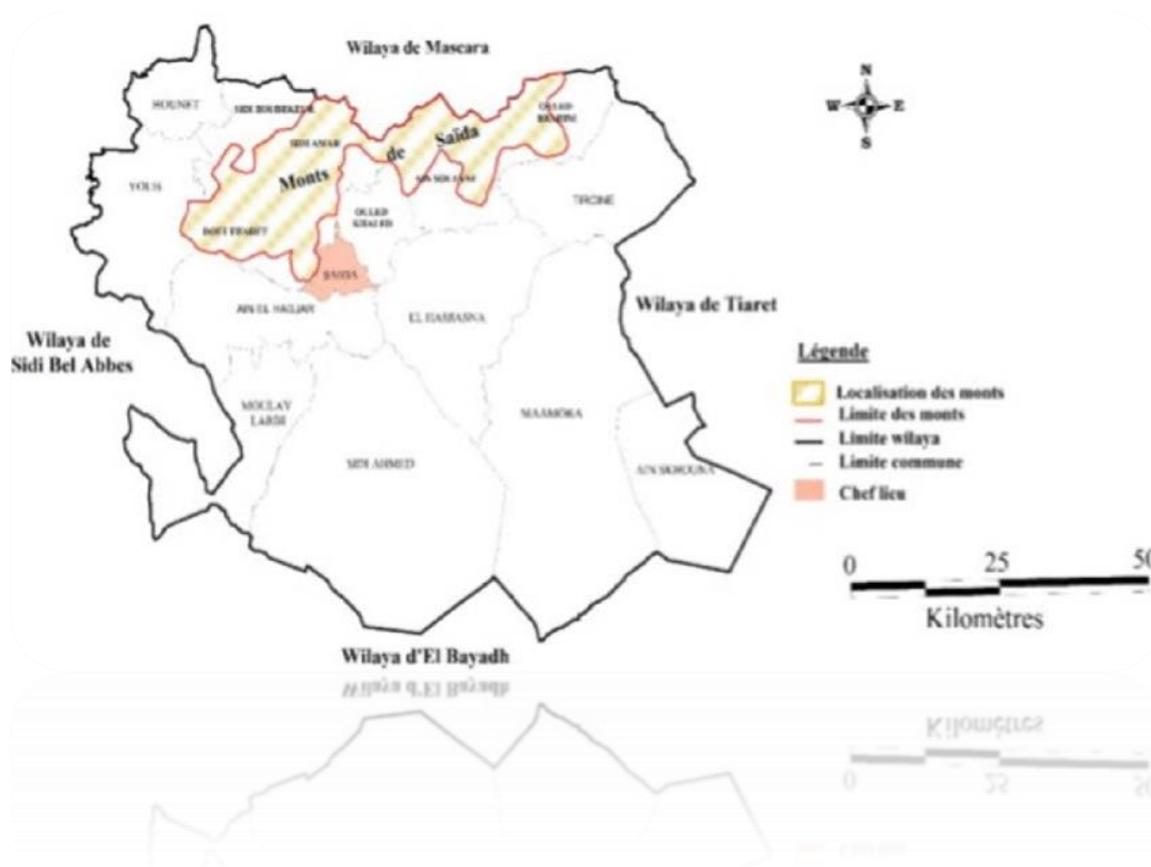


Figure 14 : Carte de situation géographique de Saida.

III.2. Matériel végétal :

les parties aériennes des deux échantillons *Globularia alypum* L et *Phillyrea angustifolia* ont été récoltées de la région de Saida (Ouled Ibrahim 38" 28' 0° Est , 24" 59' 34° Nord), (Ain el manaa 40" 8' 0° Est ,31" 45' 34° Nord) respectivement pendant le mois de janvier 2022, tandis que *Thymus ciliatus* a été récolté à (Tifrit 06" 09' 0° Est , 49" 49' 34° Nord) pendant la période de floraison (mars 2022). Les deux premières plantes ont été identifiées par le chef du département des forêts –Balloul Mr Seddiki abdelkader alors que *Thymus ciliatus* a été identifiée par Dr.Terras (botaniste à l'université Dr.Mouley taher-Saida).

Le matériel végétal a été étalé sur le sol et laissé sécher à température ambiante pendant 15-20 jours et à l'abri de la lumière directe du soleil. Une fois séchée, une partie a été broyée en une poudre fine, pour être soumise à des tests phytochimiques et également à différentes extractions.

III.2.1. Screening phytochimiques :

Dans le cadre de la recherche des nouvelles molécules biologiques d'origine végétale, il est préférable de déterminer leurs compositions chimiques par un dépistage phytochimique, nous avons caractérisé les différents groupes chimiques (tanins, flavonoïdes, anthocyanes, coumarines, composés réducteurs, amidon stérols et stéroïdes, alcaloïdes et saponines) Pour connaître la composition chimique du matériel végétal.

III.2.1.1. Différentes classes recherchées :

III.2.1.1.1. Les tannins :

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1ml de l'extrait éthanolique, 2ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée (1 %). L'apparition d'une coloration bleu-noire caractérise la présence des tannins galliques, verte ou bleu-verte celle des tannins catéchiques (Trease et Evans, 1987).

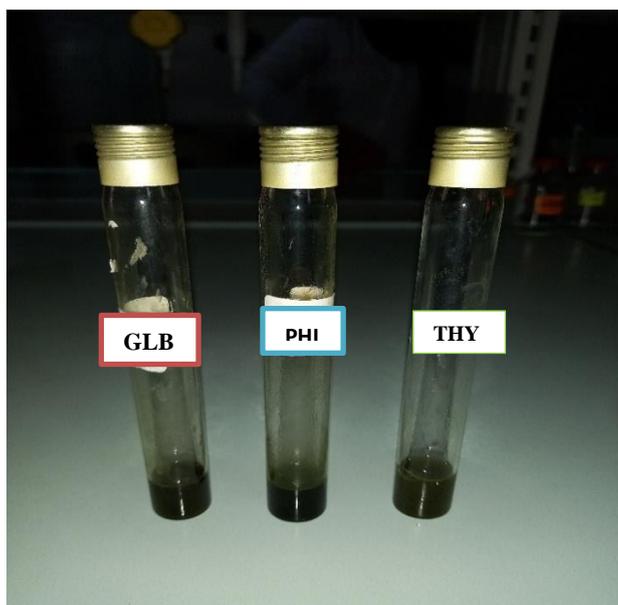


Photo 01 : Test mise en évidence des tannins

GLB : *Globularia alypum*

PHI : *Phillyrea angustifolia*

THY : *Thymus ciliatus*

III.2.1.1.2. Les flavonoïdes :

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5ml de l'extrait éthanolique avec 1ml de Hcl concentré et 0,5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (Cavé, 1993).



Photo 02 : Test mise en évidence des flavonoïdes

III.2.1.1.3. Les anthocyanes :

Un volume de 2ml d'infusé aqueux est additionné à 2ml de Hcl 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Debray et al., 1971 ; Paris et al., 1969).



Photo 03: Test mise en évidence des anthocyanes

III.2.1.1.4. Les coumarines :

Une masse de 1 gramme de poudre végétale est placée dans un tube en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous ultra-violet (**Rizk, 1982**).

III.2.1.1.5. Les alcaloïdes :

Nous avons procédé à une macération de 24 heures de 2 grammes de poudre végétale mélangés à 50ml de H₂SO₄ dilué au demi et à de l'eau distillée. Nous avons filtré le mélange et rincé à l'eau de manière à obtenir 50ml de filtrat. Ensuite nous avons pris deux tubes à essai dans lesquels nous avons introduit 1ml du macéra. Nous avons ajouté dans le tube n° 1, 5 gouttes de réactif de Mayer et dans le tube n° 2, 5 gouttes de réactif de Wagner. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes (**Paris et al., 1969**).

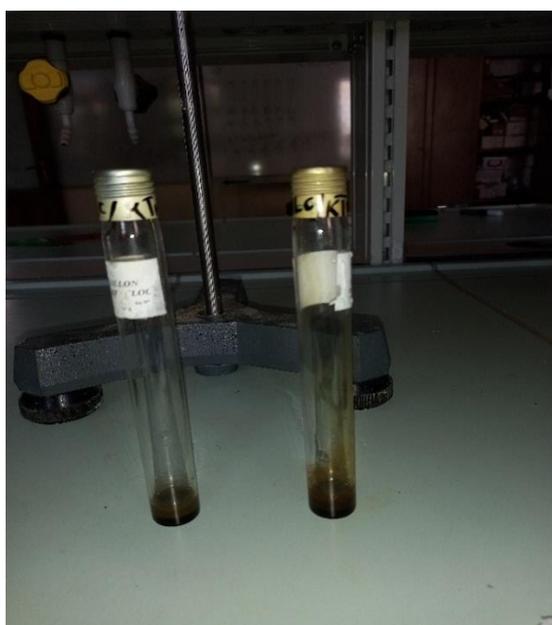


Photo 04 : Test mise en évidence des alcaloïdes

III.2.1.1.6. Stérols et triterpènes :

Deux essais ont été effectués :

► **Essai 1 :** Test pour les stérols et stéroïdes :

Un volume de 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydre acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21 ° C) (**Trease et Evans, 1987**).

► **Essai 2** : Test pour les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques :

Il consiste à évaporer à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydride acétique/ chloroforme (5/5 : V/V) ; puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de Liebermann-Burchardt).

Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique alors la présence respective des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques (**Trease et Evans, 1987**).

III.2.1.1.7. Les composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec de l'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffer.

Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

III.2.1.1.8. L'amidon :

On chauffe 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaOH saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition. Ajouter ensuite le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-violacé (**Bruneton, 1999**).

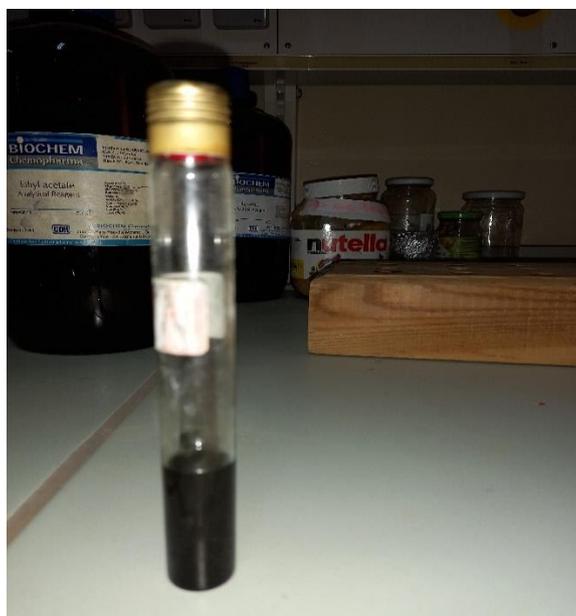


Photo05 : Test mise en évidence d'amidon.

III.2.2.Procédure d'extraction :

III.2.2.1.Extraction des huiles essentielle :

Il existe plusieurs méthodes d'obtention des huiles essentielles à savoir l'entraînement à la vapeur, l'hydro-distillation...etc. Dans notre cas, nous avons utilisé la technique d'hydro-distillation, c'est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Elle peut être utilisée pour extraire des espèces insolubles dans l'eau.

➤ Principe de l'hydro-distillation

Son principe est le suivant :

- La substance contenant l'espèce volatile à extraire est mélangée avec de l'eau et l'ensemble est porté à l'ébullition.
- La phase gazeuse, contenant l'espèce volatile et la vapeur d'eau, arrive en haut de la colonne, passe dans le réfrigérant ensuite elle se condense.
- Le résultat de l'hydro-distillation est le distillat. Ce dernier comporte alors deux phases liquides, qu'on peut séparer par décantation (**Bagard, 2008**).

➤ Technique

La méthode d'extraction est décrite ci-dessous :

On place la matière végétale sèche : 200 g dans 2 litres d'eau distillée en utilisant un appareil de type Clevenger, puis on chauffe l'ensemble pendant 4 heures, après on récupère les vapeurs refroidies. Enfin, les huiles essentielles sont récupérées dans des flacons de verre scellés puis conservées au réfrigérateur à 4°C. Le montage de l'hydro-distillation est représenté ci-dessous.



Photo 06 : Montage d'extraction de l'huile essentiel de *Thymus ciliatus*

Le rendement en huile essentiel obtenu est déterminé comme suit :

$$\text{Huile}\%(\text{v/p}) = \text{poids d'huile extraite en (g)} / \text{poids de l'échantillon traité en (g)} \times 100$$



Photo 07 : L'huile récupéré de *Thymus ciliatus*

III.2.3. Préparation des extraits :

Des extraits aqueux obtenus par infusion et un extrait hydro éthanoliques est préparé à partir de la partie aérienne de *Globularia alypum L* et *Phillyrea angustifolia*

III.2.3.1. L'extrait aqueux :

Elle est basée sur la préparation d'une infusion, en introduisant 2g de la poudre végétale dans 200ml d'eau distillée bouillante, laissé le mélange refroidir pendant 15 minutes, après une filtration. Le filtrat récupéré est évaporé à sec sous pression réduite à 70°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. (L. Majhenic, M.S. kerget et Z.2007).

III.2.3.2. L'extrait hydro éthanolique :

Cet extrait est préparé aussi par une infusion en utilisant l'éthanol à la place du l'éthanol à la place de l'eau distillée, cela est réalisé comme suite :

- ❖ Mélanger 1g de la poudre végétale avec 30 ml d'éthanol.
- ❖ Macérée sous agitation (150 tour /min) pendant 1 heure, après filtrer le mélange on obtient le filtrat 1.
- ❖ Résidu plus 30 ml d'éthanol, ré-extrait sous agitation (150 tour /min) à 25°C pendant 1 heure, et filtré le tout pour l'obtention le filtrat 2.
- ❖ On mélange le filtrat 1+2 pour obtenir un extrait hydro-éthanolique.

- ❖ Ce dernier récupéré et évaporer à sec à l'aide d'un rotavapor.
- ❖ Récupération de l'extrait sec dans l'éthanol et l'eau distillé pour l'activité antioxydant et dans le DMSO pour l'activité antimicrobienne.



Photo 08 : L'extrait aqueux / éthanolique.

III.3.Evaluation de l'activité antioxydant :

L'activité anti-radicalaire des différents extraits et l'huile est déterminée en utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (Gouveia et Castilho, 2012). La méthode de DPPH° présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH° (de couleur violette), en présence des molécules dites « antioxydants » afin plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

III.3.1.Dosage de l'activité anti-radicalaire (test DPPH) :

Le protocole expérimental suivi et celui (d'Atoui et al 2005) : à différentes concentrations (5 ; 2,5;1 ,25;0,62 ;0,31) et pour l'huile (1/2 ;1/4; 1/8 ; 1/16) 50 µl de chaque extrait et l'huile, sont ajoutés à 1950 µl d'une solution éthanolique de DPPH° à $6.34 \times 10^{-5} \text{M}$ (0,0025g dans 100 ml éthanol). Parallèlement, un contrôle positif est préparé en mélangeant 50 µl du éthanol avec 1950 µl d'une solution éthanolique de DPPH° à la même concentration utilisée.



Photo 09: Résultats du test DPPH°.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le témoin positif utilisé et le DPPH°. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange est répété 3 fois, selon la formule :

$$PI = (D.O_{\text{témoin}} - D.O_{\text{extrait}} / D.O_{\text{témoin}}) \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition.

D.O témoin : Absorbance du témoin négatif.

D.O.extrait : Absorbance de l'extrait.

III.4.Evaluation de l'activité antimicrobienne :

C'est une méthode de mesure in-vitro du pouvoir antibactérien et antifongique des composées. Cette technique compte deux méthodes , la méthode de diffusion et la méthode des puits, nous avons adopté la dernière voir **Photo 10**.C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien(**P.QUEZL et S ,2018**).

L'étude de l'activité antimicrobienne vis-à vis des de 14 souches de référence est réalisée comme suite :



Photo 10:La technique des puits

III.4.1. Matériels biologiques :

III.4.1.1. Les souches bactériennes : Les souches bactériennes suivantes sont utilisées dans notre recherche :

- Les bactéries à Gram-négatif: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *MRS A3* ATCC 13311, et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.
- Les bactéries à Gram-positif: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterobacter* ATCC 49452 et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313.
- Ces souches bactériennes proviennent du Laboratoire d'hygiène de Saïda. Elles sont conservées dans le milieu MHB (Muller Hinton Broth) additionné de 10% (V/V) de glycérol à -20°C.

III.4.1.2. Les souches fongiques :

- Champignon non filamenteux : *Candida albicans* ATCC 10231,
- Champignon filamenteux : *Aspergillus niger* *Aspergillus parasiticus* *Aspergillus flavus* MNHN 994294 *penicillium sp* et *phytophthora sp*

III.4.1.3. Milieu de culture :

- bouillon nutritif (milieu de repiquage)
- Gélose de Sabouraud (milieu de l'activité antifongique)
- Gélose Mueller Hinton (milieu de l'activité antibactérienne)

III.4.1.4. Conservation des souches :

Les souches sont conservées à 6°C dans des Boites de pétrie stériles contenant milieu de culture (gélose nutritive)

III.4.1.5. Préparations des prés cultures :

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été repiquées dans le bouillon nutritif puis incubées à 37 °C pendant 72.

III.4.1.6. Préparation de l'inoculum :

Chaque souche est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive, pour obtenir une culture de 18 à 24 h. Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées sont mis en suspension dans un bouillon nutritif (ou en eau physiologique à 0,9 % NaCl). Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 108 UFC/ ml (CA-SFM, 2010).

III.4.1.7. Dilution des extrait des plantes étudiées :

Chaque 50mg de extraite déjà Préparé diluée dans 1ml DMSO avec l'agitation a l'aide d'un vortex.

III.4.1.8. Mode opératoire :

Le milieu de culture utilisé pour l'évaluation de l'activité antibactérienne est la gélose Mueller Hinton et le milieu Sabouraud pour l'activité antifongique. La technique des puits utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien est aussi appelée la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs. Des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton sont ensemencées aseptiquement par une suspension qui provient d'une culture jeune de bactéries et des autres boîtes contenant du Sabouraud pour les moisissures .L'ensemencement se fait par écouvillonnage, le frottement de l'écouvillon sur la même boîte de pétri a été répété à trois reprises en tournant à chaque fois la boîte d'un angle de 60°. Après le séchage des boîtes, cinq puits pour les bactéries et trois puits pour les champignons perforés dans la gélose sont réalisés à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur.

Ces puits ont été ensuite remplis avec 80 µl de chaque extrait à différentes concentrations (0.5, 0.25, 0.15, 0.075 et 0.037 mg/ml) pour les bactéries et pour les champignons (0.25, 0.15, 0.075 mg/ml) Des essais témoins sont effectués avec le DMSO 5% comme contrôle négatifs vis-à-vis de chaque type de souche microbienne. Les boîtes sont ensuite mises en incubation dans une étuve à 37°C pendant 24h pour les bactéries et pour les champignons à 25°C pendant 48h. L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits.



Photo 11 :L'activité antimicrobienne

III.4.1.9.La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (QUEZEL.1963).

Partie IV. Résultats et discussion

IV.1. Screening phytochimique et potentiel bioactif in vitro des plantes *Thymus ciliatus*, *Globularia alypum* L et *Phillyrea angustifolia*

Les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée et l'avènement de la chimie moderne. Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire et d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leur activités physiologiques et possédant des vertus médicinales (Sofowora, 1993).

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir des parties aériennes de *Thymus ciliatus*, *Globularia alypum* L et *Phillyrea angustifolia* en utilisant des solvants de polarités différentes et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos plantes. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette (Hagerman et al., 2000). Les résultats relatifs au screening phytochimique sont regroupés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1: Caractéristiques phytochimiques des plantes.

Tests	<i>Thymus ciliatus</i>	<i>Globularia alypum</i> L	<i>Phillyrea angustifolia</i>
Les flavonoïdes	+++	+	+
Les tanins	+cathéchiques	+ cathéchiques	+ galliques
Les alcaloïdes	+	-	+++
Les coumarines	+	++	+++
Les anthocyanes	-	-	-
Amidon	++	-	-
Stérols et stéroïdes	+	+	+

(+): Présence faible; (+++): Présence forte; (++) : Présence moyenne; (-): Absence.

Ces résultats nous ont permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos plantes, à savoir les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, Les alcaloïdes, les stérols et les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques avec des intensités variables dans les trois plantes et une absence de composés réducteurs caractérisant les extraits de *Globularia alypum* L et *Phillyrea angustifolia*.

Pour la plante *Globularia alypum* L, nous déduisons qu'elle est riche en divers métabolites secondaires, ce qui explique l'intérêt et l'attention particulière portée par les chercheurs, à travers des études scientifiques sur cette plante. (Harzallah et al., 2010).

Selon les travaux antérieurs, les espèces du genre *Thymus* sont riches en flavonoïdes (Haraguchi et al, 1996 ; Ismaili et al, 2001) ; ces données sont comparables avec nos résultats puisque les tests ont révélé la présence des flavonoïdes avec des quantités importantes. De point de vue biologique, les plantes constituées de principes potentiellement actifs rencontrés dans toute ou une partie de la plante jouent le rôle des précurseurs de drogues très utiles en thérapie clinique (Sofowora, 1993).

IV.2. Rendement des extraits et huile essentielle

L'extraction des principes actifs, à partir de la matière végétale, suscite actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leurs pouvoirs biologiques.

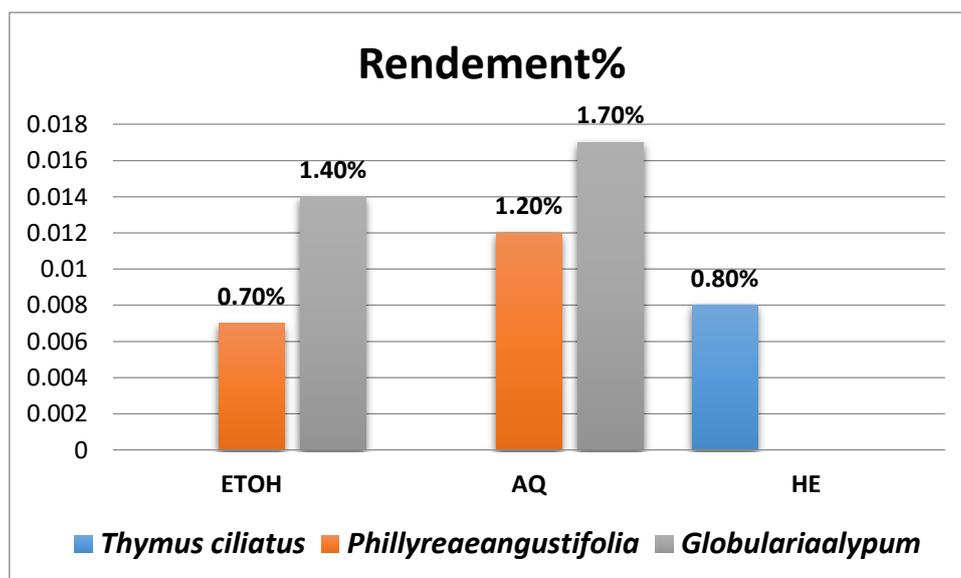
Les Rendements des extraits éthanoliques et aqueux de *Phillyrea angustifolia* et *Globularia alypum* L ainsi que l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* ont été calculés selon la formule suivante :

$$R\% = (PE/PMV) \times 100$$

R : rendement.

PE : poids de l'extrait/huile.

PMV : poids de matière végétale (g).



ETOH: extrait éthanolique, **AQ:** extrait aqueux, **HE:** huile essentielle.

L'hydro distillation des parties aériennes de *Thymus ciliatus* a donné une huile volatile jaune foncée, d'odeur très forte et d'une saveur piquante et amère avec un rendement moyen de 0,8%.(voir photo)



Photo 12 : l'aspect de l'huile essentielle obtenu par hydrodistillation de *Thymus ciliatus*

L'essai olfactifs apportée a l'analyse de l'huile essentiel est un élément de très grande valeur puisqu'il permet d'en étudier les premiers caractéristiques qu'offrent la plante.

Le rendement en huile essentielle est moins important voire voisin de ceux obtenus dans d'autres travaux notamment en Algérie (Tlemcen) par **Loukidi (1990)** sur *le Thymus ciliatus* de Terny qui a présenté (1,56%) et celui de Sidi-Djillali (1,45%). Cependant, dans la partie

sud dubassin méditerranéen (Maroc), certains travaux ont noté des rendements relativement moins élevés que la notre de l'ordre de 0,1% (**Benjilali, 1987**) Ces variations ont une corrélation significative avec certains facteurs édaphiques (pH, teneur en K₂O, texture du sol) (**Aboukhalid et al., 2017**).

La concentration en huile essentielle des plantes aromatiques et médicinales varie significativement avec le mode et la durée de séchage. La durée optimale de séchage est d'environ 10 jours et à l'ombre (**Bourkhiss et al., 2009**). Il est actuellement admis que si les conditions de séchage ne sont pas respectées, la plante risque de se dégrader ce qui engendre quelquefois la perte de la totalité de ses huiles essentielles (**Aghfir et al., 2007**).

L'extraction des composés phénoliques par les deux méthodes: hydroalcoolique, aqueuse de *Phillyrea angustifolia* et *Globularia alypum* L, nous a permis de déterminer les valeurs des rendements pour chaque extrait par rapport au poids initial du matériel végétal sec mis en poudre. Les extraits organiques obtenus ayant subi le même traitement de vaporisation et les mêmes conditions de conservation ont présenté le même aspect de couleurs différentes (voir photo19). Les couleurs, les aspects des extraits sont consignés dans le tableau4.

Tableau 02 : Les caractéristiques des extraits aqueux et éthanoliqes de *Globularia alypum* et *Phillyrea angustifolia*.

Extraits	Aspect physique	couleur
<i>Phillyrea angustifolia</i> (AQ)	crystallisé	Marron foncé
<i>Phillyrea angustifolia</i> (ETOH)	pate	Vert foncé
<i>Globularia alypum</i> (AQ)	crystallisé	Marron foncé
<i>Globularia alypum</i> (ETOH)	pate	Vert foncé



Photo 13: l'aspect des extraits éthanoliques/ aqueux (liquide et séché) des plantes étudiées.

Les résultats obtenus montrent que parmi les extraits des deux plantes étudiées, les extraits aqueux présentent les rendements les plus élevés; que celle éthanolique; avec un pourcentage de 1.20% et 1.70% pour *Phillyrea angustifolia* et *Globularia alypum* respectivement. Ceci peut être attribué à la grande capacité de dissolution de l'eau. En effet, l'eau possède un indice de polarité élevé, une constante diélectrique et une énergie cohésive très élevée par rapport aux autres solvants, ce qui permet une liaison forte entre les molécules d'eau et les composés polaires du soluté provoquant leur dissolution (Dhananiet *al.*, 2017).

En effet, l'extraction des polyphénols se fait à l'aide de plusieurs solvants ou par des mélanges solvant/eau. Le mélange éthanol/eau à 80/20 (v/v) est considéré comme un mélange de polarité élevée et le solvant apolaire eau (infusion) est très utilisé en thérapie traditionnelle; ces deux solvants sont choisis pour la réalisation des extractions. Plusieurs travaux antérieurs montrent que le rendement d'extraction augmente de manière significative avec l'utilisation d'éthanol aqueux ou de méthanol aqueux par rapport à des extractions aux solvants organiques purs (Mussatto et al., 2011).

Selon Vermerris et Nicholson (2007), la différence des valeurs peut s'expliquer par la richesse ou la pauvreté de la plante en composés solubles dans les solvants utilisés et peut être liée à leurs degrés de solubilité dans ces derniers et leur degré de glycosylation (Markham., 1982).

IV.3. Activité antioxydant des plantes étudiées (Dpph):

Le stress oxydatif est impliqué dans plusieurs maladies y compris le diabète, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, les maladies

neuro dégénératives (Parkinson, Alzheimer et Huntington), le cancer et le vieillissement (El Jemli et al., 2016) . Les antioxydants naturels tels que les composés phénoliques, composés de plantes, peuvent offrir une résistance contre le stress oxydatif en piégeant les radicaux libres, en inhibant les lipides de peroxydation et par d'autres mécanismes (Dai et Mumper, 2010).

Les résultats sont donnés en valeur IC_{50} représente essentiellement la concentration requise pour qu'un antioxydant atteigne 50% du piégeage des radicaux DPPH

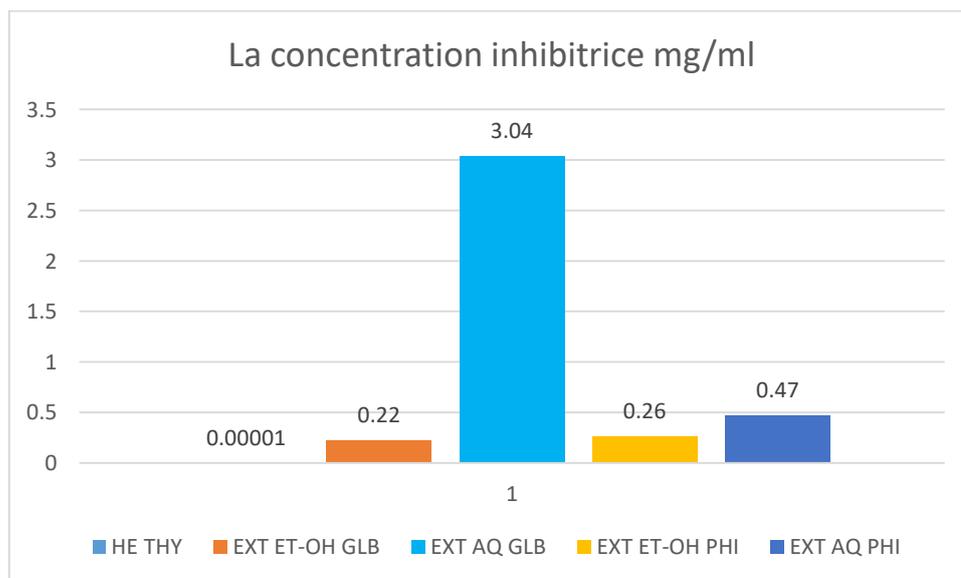


Figure 15: Valeurs des IC_{50} du test de piégeage des radicaux libres des extraits des plantes étudiées

ETOH: extrait éthanolique, **AQ:** extrait aqueux, **HE:** huile essentielle.

GLB : *Globularia alypum* **PHI :** *Phillyrea angustifolia* **THY :** *Thymus ciliatus*

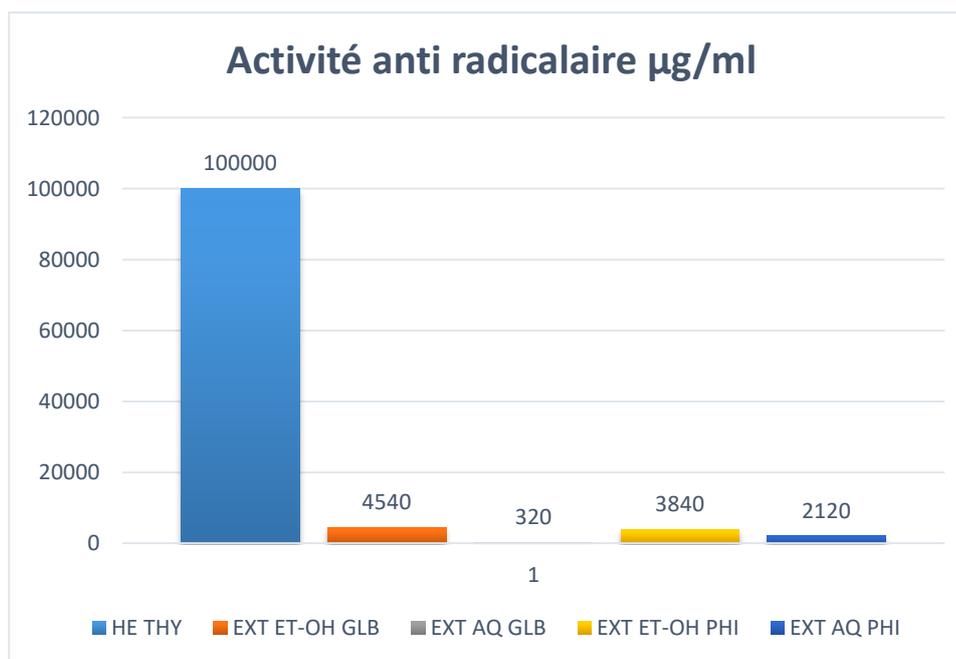


Figure 16: Valeurs de l'activité anti radicalaire des extraits des plantes étudiées

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH et anti radicalaire sont représentés dans la figure 14 et 15. Montre que l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* a exercé une excellente activité inhibitrice du radical DPPH avec un $IC_{50} = 0.00001$ mg/ml suivi par celles de l'extrait hydroéthanolique de *Globularia alypum* et *phyllirea angustifolia* avec un $IC_{50}=0,22$ mg/ml et 0,26mg/ml respectivement et par suite une valeur acceptable de l'extrait aqueux de *phillyrea angustifolia* avec un $IC_{50}=0,47$ mg/ml et et en dernier lieu l'extrait aqueux de *Globularia alypum* de 3,04 mg/ml. Il faut savoir que l' IC_{50} est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé, car cette valeur exprime la quantité d'un antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus une activité antioxydant d'un composé est grande.

D'un autre côté, L'excellente activité antioxydant de *Thymus ciliatus* est principalement due à son profil chimique, riche en thymol. En effet, les constituants phénoliques (thymol et carvacrol) ont déjà prouvé leur fort pouvoir antioxydant Ces composés phénoliques, grâce à leurs propriétés d'oxydoréduction, agissent en tant qu'agents réducteurs, donateurs de l'hydrogène et de l'oxygène singulier .en enregistrant une IC_{50} de 0.85 mg/ml) (Kholkhal et al., 2013) valeurs moins puissante que notre résultats Selon (Amarti et al., 2011) qui ont étudié l'activité antioxydant de quatre espèces de thym du Maroc, qui ont enregistré un bon effet antioxydant tell

que *T. capitatus*, *T. ciliatus* et *T. bleicherianus* avec $IC_{50} = 0.069\text{mg/ml}$, 0.074mg/ml et 0.078 mg/ml respectivement, Ces résultats montrent que l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* possède une bonne activité antioxydant.

Par ailleurs, et selon les valeurs obtenues d' IC_{50} , on s'aperçoit que les extraits issus des deux méthodes d'une extraction : extraction aqueuse et extraction hydroéthanolique ont dévoilé des activités anti oxydant nettement supérieures à celles déterminées. Nous pouvons donc noter que la variation de la capacité antioxydant de nos extraits par pourrait être due à la teneur et/ou à la présence de certaines flavonoïdes et/ou phénoliques potentiellement actives dans les extraits.

Nos résultats corroborent ceux de **(Djeridane et son équipe 2010)**, qui ont déterminé pour un extrait hydroalcoolique de *Globularia alypum* une valeur d' IC_{50} égale à $8,77 \pm 0,04\ \mu\text{g/ml}$.

L'ensemble des extraits et l'huile étudiés révèlent des activités anti radicalaires qui se manifeste par de fortes valeurs. Ces concentrations varient de 320 à 100000 $\mu\text{g/ml}$. L'huile essentiel de *Thymus ciliatus* présente un très bon pouvoir antioxydant efficace égale à $100000\mu\text{g/ml}$ supérieur à celui des extraits. Ces résultats montrent que l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* possède une bonne activité anti radicalaire Comparée à notre étude il y'a une différenciation dans le résultats de l'activité anti radicalaire, cette activité peut être attribuée à la présence du thymol et carvacrol car plusieurs auteurs l'ont confirmé **(Ruberto; Baratta, 2000 ; Miguel et al.)**.

Par ailleurs, les extraits éthanoliques ont enregistré des valeurs anti radicalaires moyennes (4540 et 3840 $\mu\text{g/ml}$), cette activité peut s'expliquer par sa forte teneur en composés polyphénoliques et notamment sa richesse en flavonoïdes, connus pour leur propriétés antioxydants. Par contre, les extraits aqueux marquent des valeurs faibles ca revient à sa richesse en acides-phénols, classe de composés reconnue pour avoir une activité anti radicalaire rapide car basée sur la libération d'atomes d'hydrogène.

IV.4. Activité antimicrobienne de plantes étudiées :

Nous avons effectué un criblage de l'activité antimicrobienne sur 14 germes pathogènes dont 8 bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia*, *Klebsiella sp*, *Bacillus sp*, *Enterobacter*, *Listeria monocytogeneses MRS A3*) et 6 souches fongiques (*Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus* et *phytophthora sp*).

IV.4.1. Évaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de nos extraits est déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, qui est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des puits contenant les extraits à tester. Dans le (**Tableau 03**) sont incluses les valeurs en (mm) des zones ou diamètres d'inhibitions relatives aux différentes souches testées :

Tableaux 03 :Activité antimicrobienne des extraits des plantes étudiées

	Activité antimicrobienne											
	<i>Globularia alypum</i>						<i>Phillyrea angustifolia</i>					
	Extrait éthanolique mg/ml			Infusion mg/ml			Extrait Ethanolique mg/ml			Infusion mg/ml		
	0.50	0.25	0.075	0.50	0.25	0.075	0.50	0.25	0.075	0.50	0.25	0.075
Gram-negative	DD											
<i>Escherichia coli</i>	13	11	10	20	18	15	25	18	10	/	11	13
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	11	12	19	16	14	/	/	/	/	08	08
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	10	09	18	16	/	/	/	/	/	09	/
MRS A3	11	08	08	19	17	15	/	/		/	13	08
Gram-positive												
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	11	10	18	15	12	/	/	/	/	07	/
<i>Bacillus cereus</i>	12	/	/	24	18	14	/	/		/	10	11
<i>Enterobacter</i>	11	10	12	23	18	16	09	/	/	13	13	09
<i>Lysteria monocytogenes</i>	12	10	09	16	13	12	/	10	/	/	10	12
Les souches fongiques												
<i>Candida albicans</i>	14	11	10	21	16	14	/		/	/	/	/
<i>Aspergillus niger</i>	/	/	/	20	14	12	/		/	/	08	08
<i>Aspergillus parasiticus</i>	/	/	/	/	/	/	/		/	/	/	/
<i>Aspergillus flavus</i>	/	/	/	/	/	/	/		/	/	/	/
<i>pénicillium sp</i>	/	/	/	/	14	18	/		/	/	09	/
<i>phytophthora sp</i>	/	/	/	20	16	13	/		/	/	/	/
Activité antimicrobienne de l'huile essentiel de thymus ciliatus												
0.075 mg/ml			0.050 mg/ml			0.015 mg/ml						
Inhibition totale envers toutes les souches testé												
Control Négatif (DMSO)	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06

DD: diamètre de la zone d'inhibition (mm) y compris le diamètre de puits de 6 mm, -: non testé.

Partie V. Conclusion

Etant donné la toxicité et/ou les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse ainsi que la résistance de certains germes microbiens face aux médicaments existants, l'utilisation des plantes qui contiennent des composés bioactives synthétisées par ces plantes possédant des propriétés biologiques: antioxydants, antibactériennes, et antifongique est en progression constante. En effet, compte tenu de leur meilleure biocompatibilité on observe une demande croissante des produits d'origine naturelle.

Notre présente étude a porté sur l'étude des activités biologiques et screening phytochimiques de l'huile essentiel et des extraits de quelques plantes aromatiques originaires de la région de Saida, il s'agit de trois plantes *Thymus ciliatus*, *Globularia alypum* L, et *Phillyrea angustifolia* qui poussent spontanément dans Tifrit, Oueld Brahim et Ain Manàa respectivement.

La première partie de notre travail est consacré à L'extraction des principes actifs de ces espèces sont effectuées par infusion en utilisant un solvant de différente polarité (l'eau). Pour mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires dans ces différents extraits, une analyse phytochimique est faite en se basant sur les propriétés physicochimiques de ces métabolites. La quantification de quelques classes des composés phénoliques (alcaloïdes, flavonoïdes, coumarines et tanins condensés...)

Nos résultats montrent que nos plantes contiennent toutes des composés phénoliques, celle qui en contient le plus est *Globularia alypum* L et le genre *Thymus* qui est riche en flavonoïdes.

La deuxième partie de notre étude nous a permis de déterminer l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle est déterminée contre huit bactéries pathogènes et six champignons par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats suggèrent que l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* a une activité antimicrobienne forte sur toutes les souches testées, concernant l'extrait éthanolique et aqueux de *Globularia alypum* L ont montrée une inhibition significative sur la plupart des souches. Les souches les plus sensibles sont *Bacillus sp*, *Enterobacter*, *E.coli*, *C.albicans*, et *Phytophthora sp*. Alors que l'extrait de *Phillyrea angustifolia* a montré une sensibilité modérée à faible aux souches testées. Sa meilleure activité est contre *E.coli*. L'activité antioxydant de l'huile essentielle et des extraits est évaluée en utilisant le test de piégeage des radicaux libres DPPH, l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* a montré une activité antioxydant élevée est excellente avec un IC50= 0,0001mg/ml, aussi celle de *Globularia alypum* L et *Phillyrea angustifolia* de l'extrait

éthanolique et *Globularia alypum L* avec $IC_{50}=0,22 ; 0,26$ et $0,47$ mg/ml respectivement. Alors que l'extrait aqueux de *Phillyrea angustifolia* montre un potentiel de piégeage des radicaux DPPH modéré avec une valeur de CI_{50} égale à $3,04$ mg / ml ce qui la rend moins active .

Il serait intéressant de poursuivre et faire des études sur ces plantes dans le but d'identifier leurs métabolites secondaires et mis en évidence par une évaluation de leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydants. Il apparaît que ces plantes présentent des propriétés antimicrobiennes et antioxydants intéressantes.

Cette étude valide scientifiquement l'usage traditionnel de ces plantes et révèle leur intérêt dans le cadre d'une exploitation en biotechnologie et leurs efficacités pour déterminer l'utilité de ces derniers dans le domaine pharmaceutique et/ou alimentaires.

PARTIE VI.
Références Bibliographiques

A

Aboukhalid K, Al Faiz C, Douaik A, Bakha M, Kursa K, Agacka M, Machon N, Tomi F,.. 2017 Characterization of microwave extracted essential oil.

Ahmad.F.A., 1995 : plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe., l'agriculture et la fabrication de plantes médicinales dans le monde arabe. Institution arabe pour les études et publication, p : 2-22.

Aissaoui A., El-Hilaly J., Israili Z.H., Lyoussi B. Acute diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats. *Food Chemistry*; 2008. Vol 115; pp 89-95.

Amarti et al 2008, 2010 *Gallica*, 158 (4), 513-523, 2011, expectorant (Brasseur, 1983), antioxydant (Miura & Nakatami,. 1989 .

Arts, I.C.W. and Hollman, P.C.H. (2005) Polyphenols and Disease Risk in Epidemiologic Studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 317S-325S.

Azzi, A., Davies, K. J. A., Kelly, F. (2013). Free radical biology- terminology and critical thinking. *FEBS Letters*. 558: 3-6.

B

Babulka P. Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales; de la médecine traditionnelle à la phytothérapie modern; *Phytothérapie*, 2007, Vol.5, pp 137-145.

Balasundram N, Sundram K, Samman S. Composés phénoliques dans les plantes et les sous-produits agro-industriels : activité antioxydante, occurrence et utilisations potentielles. *Chimie alimentaire*. 2006 ; 99 :191–203. doi : 10.1016/j.foodchem.2005.07.042.

Beecher G. R, (2003).Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutri.*, 133 (10), 3248S-3254S.

Benabed, EH Kadri, M Bederina ... B Benabed. *Epitoanyag-Journal of Silicate Based camp;Composite Materials* 70 (5), 2018.

Benabid A., (2000). Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Édition Ibis Press, 159-161.

Ben Arous , L. BOGACHEV and S. MOLCHANOV, Limit theorems for sums of random exponentials. *Probab. Theory Relat* 154:3–4, 585–605 (2012)

Benavente-García, O. and Castillo, J. (2008) Update on Uses and Properties of Citrus Flavonoids New Findings in Anticancer, Cardiovascular.

Beniston Nt. Ws. 1984. *Fleurs D'Algerie*. Entreprise nationale du livre. Alger, Algerie.

Benkiki N. Etude phytochimique des plantes médicinales algérienne : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*-Thèse de doctorat ; Université El-Hadj-Lakhdar. Batna, 2006.

Benmehdi, H. Dalile, M. Chabane sari, I. Zaaboub, D. E Smahi, ... quant à la salubrité des produits alimentaires (CASTEGNARO et al. , 2002).

Bessas, A; Benmoussa, L; Kerarma, M. Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie. 2007.

Beta ,T., Rooney , L. W., Marovatsanga, L.T., et Taylor, JRN 2005. Composés phénoliques et caractéristiques du noyau du Zimbabwe .79 :1003-1010.

Bruneton, J. (1999) *Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes Médicinales*. 3e édition, Revue et Augmentée, Tec & Doc, Paris.

Boizot N., and Charpentier .J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp 79-82.

Bounatirou S., Smiti S., Miguel M. G., Faleiro L., Rejeb M. N., Neffati M., Costa M. M., Figueiredo A. C., Barroso J. G. & Pedro L. G. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. *Food chemistry*, 105: 146-155.

Bourrel C. Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en Biochimie. Institut National Polytechnique de Toulouse. France 1993.

Bousmaha-Marroki, ... *Oil Res.*, 19, 490–493 (September/October 2007) ... All species of *Thymus* genus (Labiatae family).

Boussoualim, A Barlet, JL Izard, Vertigo-la revue électronique en sciences de l'environnement 14 (2), 2014.

C

Chograni H., Riahi L., Boussaid M., Afr J., Importance of screening phytochimiques of flowers .2012.51.343.

Chograni H., Riahi L., Zaouli Y., and Boussaid M. 2012. Polyphenols, flavonoids, antioxydant activity in leaves and flowers of Tunisian *Globularia alypum* L. (Globulariaceae). Afr J Ecol. 51(2) :343-347.

D

Debray, M ; Jacquemin, H ; Razafindrambo, R. (1971). Travaux et documents de l'Orstom. (Paris, N°8)

Djeridane A., Yousfi M., Nedjmi D., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. Antioxydant activity of some medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry; 2006, Vol. 97; pp 654-660.

DJERROUMI A., ET NACEF M.,) 2004(. 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 -131.

Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus fontanesii*- Journal of pharmaceutical biology (Pharm. Bio.); 2006, Vol.44; N°8; pp 607-612.

Dorman, H.J. and Deans, S.G. (2000) Antimicrobial Agents from Plants Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. Journal of Applied Microbiology.

E

EBRAHIMI N. S., HADIAN J., MIRJALILI M.H., SONBOLI A. ET YOUSEFZADI M., (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at différent phonological stages. Food chemistry., 110 : 927-931.

El Kalamouni, Chaker. Caractérisations chimiques et ... oubliées de Midi-Pyrénées. PhD, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2010.

F

FLEURIET Annie, JAY-ALLEMAND Christian. Couverture de l'ouvrage Les ... Date de parution : 05-2005. Ouvrage de 192 p.

Frankel, E.N. and Meyer, A.S. (2000) The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants.

G

Ghedira, K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapy* 3, 162–169 (2005).

Gouveia ... JS Câmara, PC Castilho. *Analytical and bioanalytical chemistry* 403 (4), 1049-1058, 2012.

GRAF VON GALEN ... À L'ISSUE DE LA CÉLÉBRATION. Basilique Vaticane Dimanche 9 octobre 2005.

Gulluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A., Ozkan H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry*. 103: 1449-1456.

H

Hakan Ö., Münevver S., Medine G., Ahmet A., Fikrettin S., Atalay S., Hamdullah K., Ozlem B. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of *Hippomarathrum microcarpum* (Bieb) from Turkey. *J.Agric. Food Chem.*; 2007, Vol 55; pp 937-942.

Hamel et al., 2013 ; Hamel and Boulemtafes, 2018, El Hassani et al.2013, Mehdioui Camp; Kahouadji 2007.

Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.* 2004, Vol. 1 ; pp 3 – 6.

Hopkins, W. G. (2003): *Physiologie végétale*. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.

Hostettman.K.,Poteratte.O.,et Al.,1998. The potential of higher plants as a Source of New Drugs. *Chimical International Journal for Chemistry*.

<https://www.gerbeaud.com> (consulté le 11.06.2022)

<http://www.homejardin.com>(consulté le 28.05.2022)

I

Idris, A. M. (2007). Cultural barriers to improved organizational performance in Saudi Arabia. *SAM Advanced Management Journal*, 72(2), 36.

Isman MB.Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot* 2000 ; 19 : 603-8.)

J

Jouad H., Maghrani M., and Eddouks M. 2002. Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L and *Globularia alypum* L in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 81: 6-351.

K

Kadri, M., Abdoullahi, F., (2019):Etude ethnobotanique et antimicrobienne de *Carthamus tinctorius* et *Ammodaucus leucotrichus* à Adrar.

Kanko C., Swaliho B.E.H, Kone S., Koukoua G., N'Guessan Y.T. Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *C.R. Chimie*; 2004, Vol. 7; pp 1039-1042.

KANSOLE M., 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Khadir A, Bendahou M, Benbelaid F, et al (2013) Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf.

Khlifi D., Rabiaa M., Sghaier D., Laouni A., Moktar H., and Jalloul B. 2013. Anti-inflammatory and acetylcholinesterase inhibition activities of *Globularia alypum*. *Journ al of Medical and Bioengineering.* 2(4) :234-235.

KHOLKHAL Fatima. Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*(2014).

Kueny-Stotz, M., (2008). Contribution à la chimie des flavonoïdes : élaboration de squelettes flavylum sophistiqués, nouvelle voie d'accès aux flavan-3-ols et aux proanthocyanidines. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Chimie organique, Université Louis Pasteur Strasbourg, France. p54.

Kunkele et Lobmeyer RT. Plantes médicinales. Paris : Parragon Books . LTD ; 2007.

Krimat et all. ISSN : 2028-2508. CODEN: JMESCN ... Received 17 May 2014; Revised 17 September 2014; Accepted 25 September 2014.

Kris-Etherton, Harris and Appel, (2002) reported improved state in patients with cardiovascular disease and daily intake of EPA or DHA .

L

Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2007). Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.

M

Macheix, Annie Fleuriet, Christian Jay-Allemand, Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes, 2005, 192 p. (Collection Biologie).

Marie-Claire Toufektsian, ... The Journal of Nutrition, Volume 138, Issue 4, April 2008, Pages 747–752, <https://doi.org/10.1093/jn/138.4.74>.

Magalhaes, A. L.; K. Zorzi, K. , 2008. Residue from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) processing in the rations for milking cows.

Majhenic, L., Kerget, M.S. and Knez, Z. (2007) Antioxidant and Antimicrobial Activity of Guarana Seed Extracts. Food Chemist, 104, 1258-1268.

MM Labani, R Rezaee, A Saeedi, A Al Hinai. Journal of Petroleum Science and Engineering 112, 7-16, 2013.)

N

Naghbi F, Mosaddegh M, Mohammadi M.S et Ghorbani A-Labiatae Family in folkMedicine in Iran : from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian journal of pharmaceuticalresearch ; 2005, vol. 2; pp 63-79.

Nauciel. Masson, 2001 - Bacteriology - 275 pages ... Bactériologie médicale · Charles Nauciel, Jean-Louis Vildé Limited preview - 2005

O

Omar.A., Mohammed El haykle.M., 1993. Plantes médicinales et aromatiques deuxième édition, installation connaissance D'Alexandrie, p:13-134.

Oyaizu, M. (1986) Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. Japan Journal.

P

Paris , R ; et Moyses, H. (1969). Précis de matière médicale. Paris : Masson.

PeL Lecuer et H. Pomarèdes, coLLab. d. LoPez Fig. 3. Les greniers indépendants (DAO P. Cayn d'un ; après Escallon 2010 ; Breuil camp; Houix 2011.

Peronny; Claude Marcel Hladik; Bruno Simmen; Bertrand L Deputte; Hervé Hoste; Sabrina Krief; Brice Lefaux; Muséum national d'histoire naturelle (Paris).; École doctorale Sciences de la nature et de l'Homme - Évolution et écologie (Paris).

Pietta, P.G. (2000) Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural Products, 63, 1035-1042.

Prescott et al. (2018) focused exclusively on longitudinal studies that investigated the effects of VVG on subsequent physical aggression.

Q

Quezel P. and Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du centre national de la recherche scientifique: Paris, France, pp : 34-132.

R

R. Canton, ECCMID 2013, F. Baquero, Drug Resistance Updates, 2001, Rodriguez – Bano, CID, 2012. Friedland, CID 2010. CA SFM EUCAST CNBH 2014.

Rasekh H.R., Khoshnood-Mansourkhani M.J., Kamalinejad M. Hypolipidemic effects of Teucrium polium in rats. Fetoterapia; 2001, Vol.72; pp 937-939.

Rizk ,A.M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar. Fitoterrapia, 52 (2) : 35-42.

Ruberto, G. and Baratta, M.T. (2000) Antioxidant Activity of Selected Essential Oil Components in Two Lipid Model Systems. *Food Chemistry*, 69, 167-174.

S

Sahnoune et al, *European Polymer Journal*, 2017 ; 90, 418-430. 3- M. Sahnoune et al, *Journal of Polymer Engineering*, 2018; 10.1515/polyeng-2018-0131.

Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed Tec et. Doc Lavoisier. pp : 02-11.

Skim F., Lazrek B. H., El Amri H., and Jona M. 1998. Toxicological studies on *Globularia alypum* and *zygophyllum goetulum* in rats. *Phytotherapy Research*. 12(8) :592-594.

Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodriguez J.F., Estarron-Espinosa M., Garcia-Fajardo JA et Obledo-Vazquez E.N-Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*-E-Gnosis [online]; 2006, Vol. 4; N° 16.

Suzgeç S., Meriçli A.H., Houghton P.J., Çubukçu B. Flavonoïdes of *Helichrysum compactum* and their antioxydant and antibacterial activity. *Fitoterapia*; 2005, Vol. 76; pp 269-272.

T

Taghzouti et al. ISSN : 2028-2508 ... Othmane Khalifi Taghzouti a. , Mounyr Balouiri
Received 09 Mar 2016, Revised 23 Apr 2016.

Trease, E; et Evans, W.C .(1987). *Pharmacognosie*, Billiaire Tindall. London 13 th Edition.P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pomme). *Journal of Medicine and scientific*. 4(3), 179-182. Nigeria. ISSN 1682-4474.

V

Valnet J., 2005. *L'aromathérapie*. Ed. Maloine S.A. ISBN: 2-253-03564-5.

Venderjagt T.J., Ghattas R., Venderjagt D. J., Crossey M., Glew R.H. Comparisan of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico . *Life Sciences*; 2002, Vol. 70; pp 1035-1040.

Vermerris W. and Nicholson R. (2006). Phenolic compound chemistry: Families of Phenolic Compound and Means of Classification. The Netherlands. p, 267.

W

Wichtl M, Anton R (2009). Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officielle, science et thérapeutique. Paris, Lavoisier Tec et Doc, 692 pages.

Williams, C.A., Grayer, R. J., (2004). Anthocyanins and other flavonoids. Nat. Prod. Rep. Vol. 21(4); pp: 539-573.

Y

Yue, T L., Cheng, H Y., Lysko, P G., McKenna, P J., Feuerstein, R., Gu, J L., Lysko, K A., Davisand, L L., Feuerstein, G., (1992), Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger the journal of pharmacology. <http://jpet.aspetjournals.org/content/263/1/92.short>.

PARTIE VII : Annexe

Annexe

Annexe 01 : Muller Hinton :

Macération de viande	300 ml
Peptone de caséine	17,5 ml
Amidon	1,5 ml
Agar	71g
Ph	7,4

Annexe 02 : Réactif de Wagner

KI	2g
I ₂	1,27 g
L'eau distillée	100ml

Annexe 03 : Réactif de Mayer

Hgcl ₂	1,358g
KI	5g
L'eau distillée	100ml

Annexe 04 : sabouraud

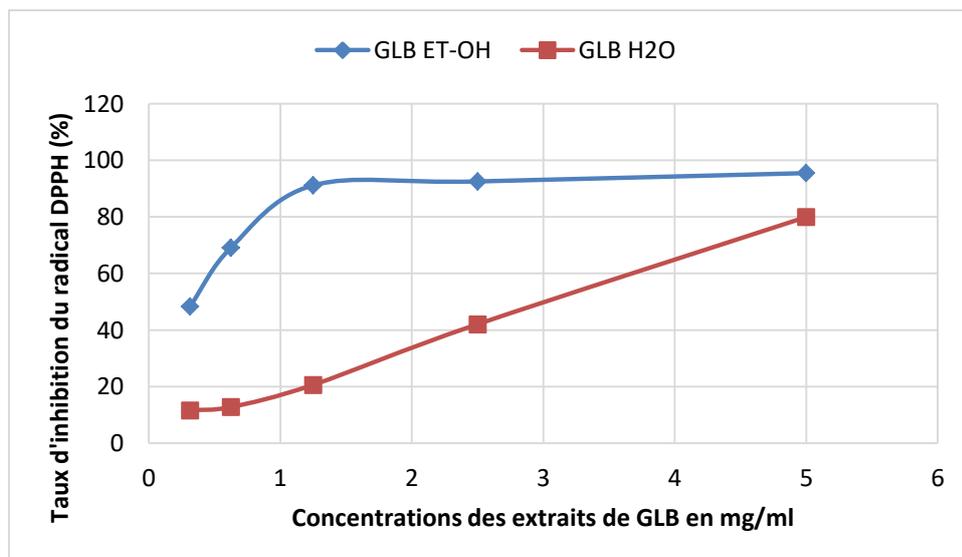
Peptones	10g
Agar	15g
Ph	5,4
Eau distillée	1L

Annexe 05 : Résultats de la concentration inhibitrice.

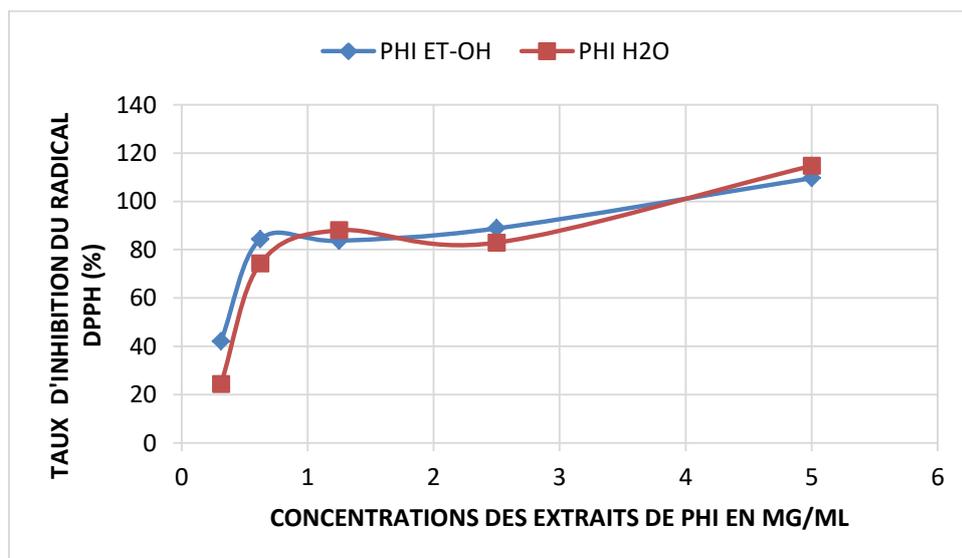
Les plantes	IC ₅₀ (mg/ml)
HE <i>THY</i>	0,00001
EXT ET-OH <i>GLB</i>	0,22
EXT AQ <i>GLB</i>	3,04
EXT ET-OH <i>PHI</i>	0,26
EXT AQ <i>PHI</i>	0,47

PARTIE VII : Annexe

Annexe 06 : Fraction résiduelle du DPPH des extraits du *Globularia alypum L.*



Annexe 07 : Fraction résiduelle du DPPH des extraits du *Phillyrea angustifolia.*



PARTIE VII : Annexe

Annexe 09 : Fraction résiduelle du DPPH de l'huile essentielle de *Thymus ciliatus*

