



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



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID –TLEMSEN-  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

**Mémoire**  
**En vue de l'obtention du diplôme**  
**Master en Biologie**  
**Option : Alimentation et nutrition**

**Thème:**

**Activités antioxydantes et l'effet hémolytique des huiles essentielles de *Thymus ciliatus ssp-eu-ciliatus* et d'*Ammoïdes Verticillata*.**

Présenté Par : M<sup>elle</sup> BELHADJ HANANE

Soutenu le : 08/07 /2015 Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> LOUKIDI BOUCHRA	M. C. A	Présidente
M <sup>r</sup> AZZI RACHID	M.C.A	Examineur
M <sup>me</sup> CHAOUCHE FARAH	M.C.B	Examinatrice
M <sup>r</sup> TEFIANI CHOUKRI	M.A.A	Promoteur

Année Universitaire : 2014- 2015

# Remerciements

*Avant toute chose je tiens à remercier Allah qui m'a donnée la chance, la volonté et la force pour arriver à ce stade d'études*

*Je remercie très chaleureusement l'encadreur Monsieur Tefiani Choukri pour m'avoir accepté d'encadrer et pour m'avoir proposé ce sujet si intéressant et m'avoir accepté d'encadrer et d'orienter tout au long de mon travail*

*Je tiens à remercier le Madame Loukidi Bouchra pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury, Qu'il trouve ici mes sincères impressions de gratitude et de respect*

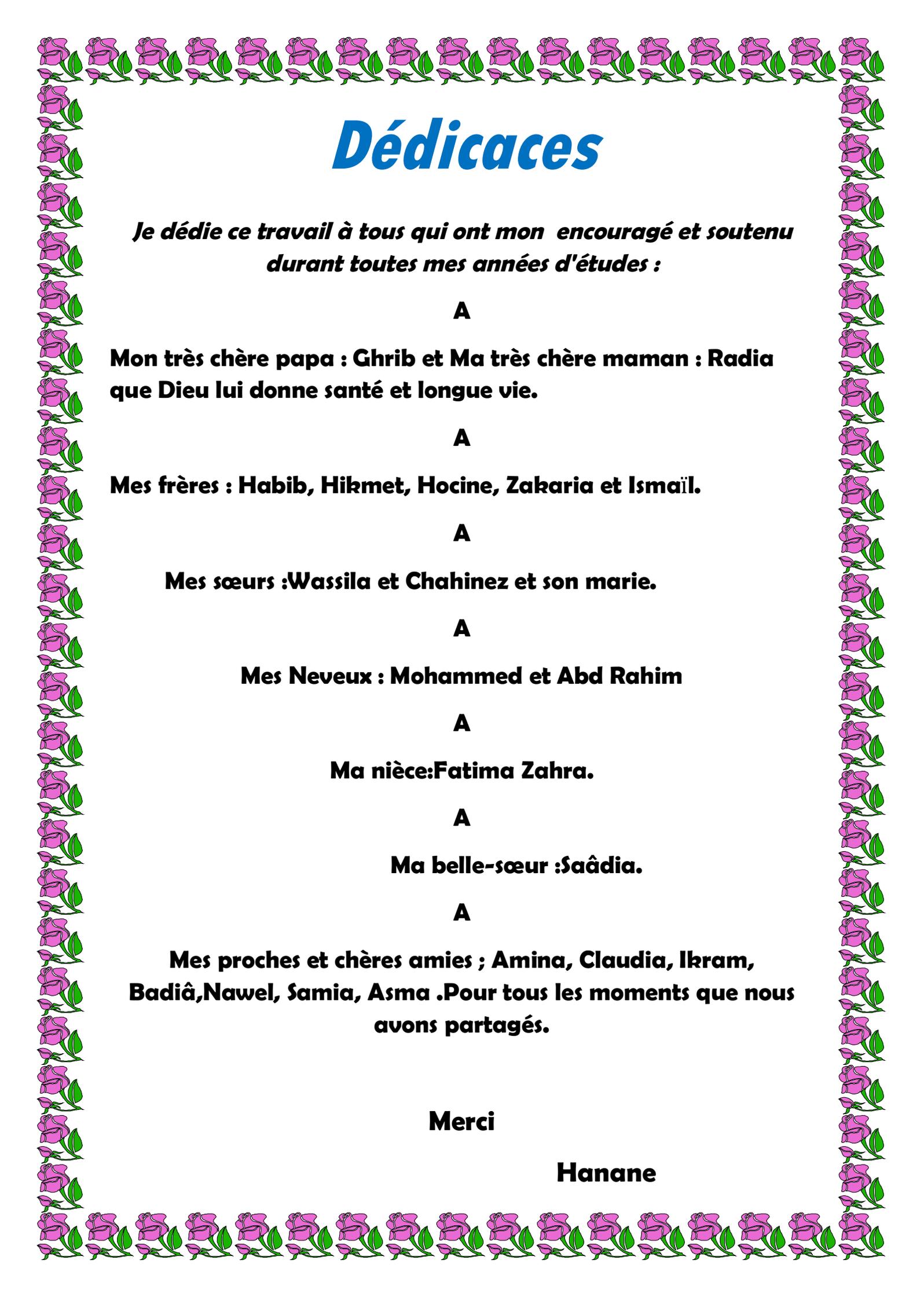
*Je remercie aussi Monsieur Azzi Rachid pour l'intérêt qu'il manifeste à ce travail et pour l'honneur qu'il me fait en participant à ce jury*

*Mes remerciements vont aussi à Madame Chaouche Farah pour avoir accepté de juger ce travail, qu'elle trouve ici toutes mes expressions respectueuses.*

*Je tiens à remercier aussi tous les membres de laboratoire d'Agronomie.*

*Enfin je remercie ma famille surtout mes parents et je remercie aussi mes amis et toutes les personnes qui ont participé étroitement à l'avancée de mon travail et à la réalisation des études expérimentales.*

*Merci*



# ***Dédicaces***

***Je dédie ce travail à tous qui ont mon encouragé et soutenu  
durant toutes mes années d'études :***

**A**

**Mon très chère papa : Ghrib et Ma très chère maman : Radia  
que Dieu lui donne santé et longue vie.**

**A**

**Mes frères : Habib, Hikmet, Hocine, Zakaria et Ismail.**

**A**

**Mes sœurs :Wassila et Chahinez et son marie.**

**A**

**Mes Neveux : Mohammed et Abd Rahim**

**A**

**Ma nièce:Fatima Zahra.**

**A**

**Ma belle-sœur :Saâdia.**

**A**

**Mes proches et chères amies ; Amina, Claudia, Ikram,  
Badiâ,Nawel, Samia, Asma .Pour tous les moments que nous  
avons partagés.**

**Merci**

**Hanane**

## ***Table des matières***

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviation

Introduction

### ***Partie bibliographique***

#### ***Chapitre 1 :***

<b>A. Les Huiles Essentielles</b> .....	3
A.1. Introduction .....	3
A.2. Définition .....	3
A.3. Localisation et répartition .....	3
A.4. Composition chimique.....	4
A.4.1. Les composés terpéniques.....	4
A.4.2. Les composés aromatiques .....	4
A.4.3. Composés d'origines diverses .....	4
A.5. Procédés d'extraction des huiles essentielles .....	4
A.6. Activités biologiques .....	6
A.6.1. Propriétés antimicrobiennes.....	6
A.6.1.1. Antivirales .....	6
A.6.1.2. Antiparasitaires.....	6

A.6.1.3. Antifongique.....	7
A.6.2. Propriétés antioxydants.....	7
A.6.3. Régulatrices du système nerveux.....	7
A.6.3.1. Antispasmodiques.....	7
A.6.3.2. Calmantes, anxiolytiques.....	7
A.6.3.3. Analgésiques, antalgiques.....	7
<b>B. Les plantes étudiées .....</b>	<b>8</b>
B.1. <i>Thymus Ciliatus ssp eu-ciliatus</i> .....	8
B.1.1. Introduction.....	8
B.1.2. Description botanique.....	8
B.1.2.2.Appareil reproducteur.....	9
B.1.2.1.Appareil végétatif.....	9
B.1.3.Systématique et classification de <i>T. ciliatus</i> .....	10
B.1.4.La composition de leur HE.....	11
B.1.5.Utilisation thérapeutiques.....	11
B.2. <i>Ammoïdes verticillata</i> .....	12
B.2.1.Présentation de la plante.....	12
B.2.2.Nom scientifique.....	14
B.2.3.Nom vernaculaire.....	14
B.2.4. Systématique d' <i>A. Verticillata</i> .....	14
B.2.5.Description botanique.....	15
B.2.6.Propriétés thérapeutiques de cette plante.....	15

## **Chapitre 2**

Antioxydant et l'activité antioxydant.....	18
1. Définition d'antioxydant .....	18
2. Types d'antioxydant.....	18
2.1. Antioxydant synthétique.....	18
2.2. Antioxydant naturel.....	19
2.2.1. Sources naturelles d'antioxydant.....	19
2.2.1.1. Huile d'olive .....	19
2.2.1.2. Olives de Table .....	20
2.2.1.3. Huiles végétales .....	20
2.2.1.4. Herbes et épices .....	20
2.2.1.5. Sous-produits agricoles .....	21
2.3. Antioxydant synergiste .....	21
2.4. Antioxydant primaire.....	21
2.5. Antioxydant secondaire .....	22
3. Toxicité des antioxydants .....	22
4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant .....	23

## **Chapitre 3**

1. L'hémolyse .....	24
---------------------	----

2. 2. Le globule rouge.....	24
3. Les signes biologiques de l'hémolyse.....	25
4. Les signes cliniques.....	25
5. Les types d'hémolyse .....	26
5.1. Hémolyse intratissulaire .....	26
5.2. Hémolyse intravasculaire.....	26
5.3. Hémolyse pathologique .....	27

## **Matériel et méthodes**

Matériel végétal.....	28
1.1. Choix des plantes.....	28
1.2. Provenance des plantes <i>A. verticillata</i> et <i>T. ciliatus</i> .....	28
1.3. Situation géographique de la zone d'étude.....	28
1.4. Huiles Essentielles.....	29
1.4.1. Procédé d'extraction des HE.....	29
1.4.2. Conservation des HE .....	30
1.4.3. Détermination du rendement en HE.....	31
2. Activité antioxydant .....	32
2.1. Piégeage du radical DPPH.....	32
2.2. Piégeage du radical ABTS.....	33
2.3. Piégeage du radical hydroxyle .....	34

3. Evolution de l'effet hémolytique .....	36
3.1. Préparation de PBS (phosphate buffered saline) à pH =7,4 ± 0,02.....	36
3.2. Préparation de la suspension érythrocytaire .....	36
3.3. Préparation des extraits.....	37
Les étapes de l'effet hémolytique .....	38

## **Résultats et discussion**

1. Propriétés organoleptiques des HE extraites .....	42
2. Rendement d'extraction des HE des plantes étudiées .....	43
2.1. Rendement en HE d' <i>A. verticillata</i> .....	43
2.2. Rendement en huiles essentielles de <i>T.ciliatus</i> .....	43
3. Mesure du pouvoir antioxydant des HE extraites.....	45
3.1. Piégeage du radical DPPH.....	47
3.2. Piégeage du radical ABTS.....	49
3.3. Piégeage du radical hydroxyle .....	52
L'activité hémolytique .....	54
<b>Conclusion</b> .....	58
<b>Références bibliographiques</b> .....	60

## **Annexe**

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 1</b> : Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	6
<b>Tableau 2</b> : Systématique de <i>T.ciliatus</i> .....	10
<b>Tableau 3</b> : Les différentes appellations de <i>T.ciliatus</i> .....	10
<b>Tableau 4</b> : Variation de composition des HE de <i>T. ciliatus</i> .....	11
<b>Tableau 5</b> : Systématique d' <i>A. verticillata</i> .....	15
<b>Tableau 6</b> : Enquête thérapeutique effectuée au niveau de la région de Tlemcen sur la plante d' <i>A. verticillata</i> .....	17
<b>Tableau 7</b> : Lieux de prélèvement et caractéristiques de l'échantillon étudié.....	28
<b>Tableau 8</b> : Lieu de récolte de la plante et caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la station de récolte.....	29
<b>Tableau 9</b> : Caractères organoleptiques des huiles essentielles étudiées.....	42

## **Liste des figures**

<b>Figure 1 :</b> Thym ( <i>Thymus ciliatus ssp eu-ciliatus</i> ).....	9
<b>Figure 2 :</b> les régions de localisation d' <i>Ammoïdes verticillata</i> .....	13
<b>Figure 3 :</b> <i>Ammoïdes verticillata</i> .....	13
<b>Figure 4 :</b> Les globules rouges.....	25
<b>Figure 5 :</b> Carte géographique de la station d'étude.....	29
<b>Figure 6 :</b> Le montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction des huiles essentielles.....	30
<b>Figure 7 :</b> Réaction entre le radical DPPH et l'antioxydant pour former le DPPH stable.....	32
<b>Figure 8 :</b> Formation de l'ABTS <sup>+</sup> par un oxydant persulfate de potassium.....	34
<b>Figure 9 :</b> La solution de PBS.....	36
<b>Figure 10 :</b> La suspension érythrocytaire.....	36
<b>Figure 11 :</b> L'étuve.....	39
<b>Figure 12 :</b> Centrifugeuse.....	40
<b>Figure 13 :</b> Spectrophotométrie.....	41
<b>Figure 14 :</b> Rendements des huiles essentielles d' <i>A. verticillata</i> .....	45
<b>Figure 15 :</b> Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH <sup>+</sup> en fonction des différentes concentrations des différentes HE étudiées.....	48
<b>Figure 16 :</b> Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS <sup>+</sup> en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles étudiées.....	51

<b>Figure 17 :</b> Pourcentage de piègeage du radical hydroxyle en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles étudiées.....	53
<b>Figure 18 :</b> L'évolution du taux d'hémolyse des tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d'huiles essentielles de <i>T. ciliatus</i> .....	55
<b>Figure 19 :</b> L'évolution de taux d'hémolyse des tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d' huiles essentielles d' <i>A. verticillata</i> .....	56

## Liste d'abréviation

**ABTS** : Sel d'ammonium de l'acide 2,2-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline -6-sulfonique).

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AFNOR** : Association Française de normalisation.

**A .verticillata** : *Ammonites verticillata*.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine.

**ED** : Eau distillée.

**EDTA** : L'acide éthylène diamine tétra-acétique.

**GR** : Globule rouge.

**G6P** : Glucose-6-phosphate.

**Hb** : Hémoglobine.

**HE** : Huile essentielle.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration d'inhibition à 50%.

**LDH** : Lactate Déshydrogénase.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**PBS** : Phosphate buffer saline.

**SE** : Suspension érythrocytaire.

**T.** : Thymus.

***T. ciliatus*** : *Thymus ciliatus* ssp eu-ciliatus.

# **Introduction**

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al., 2001**). De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, tenant compte de leurs propriétés aromatiques comme l'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle (**Millago et al., 2005**).

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riche dans le monde, avec un nombre très élevé des plantes utilisées comme médicament, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles ont été identifiées et beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (**Majinda et al., 2001**). Actuellement l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médecines traditionnelles à base de plante en tant que soins de santé primaire (**Krishnaiah et al., 2011 ; Bakchiche et al., 2013**).

L'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Bruneton, 1999; Teuscher et al., 2005**). Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses (**Chalchat et al., 1997; Baser et al., 2001**) et pour la protection des aliments contre les altérations (**Miguel, 2010 ; Djenane et al., 2012**).

Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire, en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Cimanga, 2002**). Ainsi, les huiles essentielles et leurs composantes, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes, antifongique, antiparasitaire et insecticide (**Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008 ; Miguel, 2010**) et pourraient donc servir d'agent de conservation alimentaire (**Oussalah et al., 2007 ; Djenane et al., 2012**), ainsi que d'autres activités biologiques (**Adorjan et Buchbauer, 2010**). En effet, elles sont bénéfiques par leurs effets biologiques : antibactérien sans développement de phénomène de résistance, antioxydant, activateur du système immunitaire, stimulateur des processus de digestion (**Guillier et al., 2007**).

Le climat méditerranéen en Algérie favorise la croissance des plantes sauvages, mais malheureusement, parmi les différentes espèces de la flore algérienne, jusqu'à présent, peu d'entre elles sont étudiées. La valorisation de ces ressources naturelles est basée sur l'extraction de leurs substances naturelles qui peuvent servir en industries alimentaire, pharmaceutiques et en cosmétiques (Haoui et al., 2011 ; Azzi et al., 2012).

A cet effet et dans le cadre de la valorisation de quelques espèces aromatiques et médicinales poussant à l'état spontané à Tlemcen ou encore pouvant y être introduites dans un objectif de développement durable, on a orienté notre travail sur l'étude des activités biologiques des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*, *Ammoides verticillata* commercialisées dans la région de Tlemcen Ouest d'Algérie.

Nos objectifs sont les suivants :

- Déterminer l'effet antioxydant de ces huiles essentielles par différentes méthodes (piégeage du radical DPPH, piégeage du radical ABTS et piégeage du radical hydroxyle).
- Evaluer l'activité Hémolytique des huiles essentielles.

Cette étude comporte trois chapitres :

- ❖ Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales, la classification des plantes étudiées et l'intérêt des huiles essentielles.
- ❖ Le second décrit la partie expérimentale, avec une présentation de la technique d'extraction, des tests antioxydants, hémolytiques.
- ❖ Le troisième est consacré aux résultats qui y sont discutés et confrontés à ceux d'autres auteurs.

# **Partie**

# **Bibliographique**

# *Chapitre 1 :*

## *Les huiles essentielles*

## A. Les Huiles Essentielles

### A.1. Introduction

Chaque fois que, après avoir écrasé un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée (**Padrini et al., 1996**).

Le terme « huiles essentielles » est très ancien et assez universelle (**Yuerdon, 2004**), a été inventé au XIII<sup>ème</sup> siècle par le médecin Suisse Parascelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**L'Harmattan, 2005**).

### A.2. Définition

D'après **Michalis et al., (2013)** les HE sont des liquides aromatiques huileux obtenus à partir de diverse plantes des pays chauds où tempères, elles sont le résultat du métabolisme secondaire des plantes aromatiques. Et sont caractéristiques de leur arôme (**Ester et al., 2012**). Selon **Valnet, (1984)** ce sont des produits huileux donc de nature hydrophobe.

Elle s'appelle aussi l'essence ou l'huile volatile qui est un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Bruneton, 1999**).

### A.3. Localisation et répartition

Les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, et selon **Lawrence, (1980)** il y aurait 17500 espèces aromatiques.

Dans le cas le plus simple, les HE se forment dans le cytosol des cellules où : soit ils se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles, soit s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du mésophile de nombreux pétales (**Gerhard, 1993**).

Les HE peuvent être extraites des différentes parties de la plante : fleurs, écorces de fruits, graines, feuilles, baies, boutons floraux, fruits, bois (**Richard, 1989**).

Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les HE sont réparties dans un nombre limité des familles, par ex : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae,

Asteraceae, Apiaceae, Poaceae, Cupressaceae, Zingiberaceae, Piperaceae (Feguered, 2007 ; Bruneton, 1999).

#### A.4. Composition chimique

Les constituants des HE appartiennent à deux grands groupes, les terpénoïdes d'une part et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

##### A.4.1. Les composés terpéniques

Les principaux constituants des HE sont les hydrocarbures terpéniques ( $C_5H_8$ ), dont les plus fréquents les monoterpènes proprement dit ( $C_{15}H_{16}$ ) et les sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ). et on peut aussi trouver les terpènes sous forme tri, tétraterpènes etc... (Allingern, 1976).

##### A.4.2. Les composés aromatiques

Sont des dérivés du phénylpropane ( $C_6-C_3$ ) qui sont les aldéhydes, alcools, phénol, méthoxy, et dioxyde de méthylène (Bakkali et al., 2008 ; Bajpai et al., 2012).

##### A.4.3. Composés d'origines diverses

Il s'agit là des produits résultant de la transformation des molécules non volatiles:

- ✚ Composés issus de la dégradation d'acides gras.
- ✚ Composés issus de la dégradation des terpènes.
- ✚ Composés azotés ou soufrés (Bruneton, 1999).

#### A.5. Procédés d'extraction des huiles essentielles:

Les procédés d'extraction des huiles essentielles sont résumés dans le tableau 1

**Tableau 1** : Les procédés d'extraction des HE

	Hydrodistillation simple	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Immersion directe du matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition.</li> <li>✓ La composition chimique dépend largement de l'influence des conditions d'hydrodistillation sur l'essence contenue dans la plante (Bourrel, 1993).</li> </ul>
--	--------------------------	---

Distillation	Hydrodistillation par micro- onde sous vides	✓ Plante chauffée sélectivement par un rayonnement micro-onde dans le but de réduire le temps d'extraction et d'obtenir un bon rendement <b>(Bruneton, 1999 ; Lahiou, 2004)</b> .
	Distillation Par entraînement à la vapeur d'eau	✓ Dans une chaudière, l'eau est d'abord chauffée sur un feu de bois. La vapeur produite est acheminée vers un alambic qui contient la plante. En se diffusant dans la matière végétale, la vapeur capture les huiles essentielles volatiles. Ce mélange gazeux se condense ensuite dans un serpentin refroidi à l'eau. Il s'écoule finalement dans un séparateur qui permet de récupérer les huiles <b>(Drouin ,1997)</b> .
	Hydrodiffusion	✓ Pulsation de la vapeur d'eau de très faible pression à travers la masse végétale du haut vers le bas <b>(Bruneton ,1999)</b> . ✓ Le rendement est légèrement supérieur. La durée de la distillation est plus réduite (de 30% environ). <b>(Viaud, 1993)</b> .
	Distillation sous vide à T° de 50°C	✓ Le temps de distillation est réduit. <b>(Viaud, 1993)</b> .
	Distillation à haute pression et à haute T°	✓ Permet une extraction plus complète des produits volatils en un temps plus court et avec moins de vapeur. ✓ Décomposition des portions les plus volatiles des huiles par la haute température et la haute pression. <b>(Viaud, 1993)</b> .
	Distillation à la vapeur d'eau avec entraînement par huiles essentielles	✓ Entraînement avec une ou plusieurs autres huiles essentielles ayant des propriétés voisines, ou bien des propriétés complémentaires, les composants du mélange agissant en synergie <b>(Viaud, 1993)</b> .
Extraction par enfleurage	✓ C'est une extraction des essences des fleurs par contact avec une matière grasse <b>(Pibiri ,2006)</b> .	
Expression	✓ Ne peut convenir que pour des écorces fraîches, très riches en essence.	
Extraction par CO2 liquide	✓ Utilisation de dioxyde de carbone à l'état supercritique (Pc72, 9atm et T=31 ,3°C) <b>(Richard, 1989)</b> . ✓ Augmentation du rendement dans le cas de plantes peu riches en huiles essentielles; ✓ Le produit obtenu était olfactivement moins fin <b>(Viaud, 1993)</b> .	
Extraction avec des solvants	✓ Utilisée pour les composés non entraînaibles par la vapeur d'eau (135) et pour les fleurs dont les	

	<p>molécules sont trop fragiles (<b>Pibiri, 2006</b>).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Obtention des oléorésines renfermant les substances volatiles mais aussi triglycériques, les cires, les colorants de nature lipidique et les substances sapides (qui ont le goût) (<b>Richard, 1992</b>)</li> <li>✓ Les solvants organiques utilisés sont très dangereux aussi bien pour le manipulateur que pour celui qui absorbe les produits ainsi obtenus (<b>Naves, 1974</b>).</li> <li>✓ Le procédé d'extraction peut modifier la composition de l'huile essentielle (<b>Viaud, 1993</b>).</li> </ul>
--	--

## A.6. Activités biologiques

Les HE obtenus à partir des plantes aromatiques et médicinales sont connus depuis l'antiquité pour avoir des activités antibactériennes, antifongiques, et antioxydants (**Bratta et al., 1998**).

Les HE ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Et ces propriétés dépendent de leur composition chimique (**Celikel et Kavas, 2008**).

Il est reporté que 60% des dérivés des HE examinés à nos jours sont des inhibiteurs des champignons et 30% des inhibiteurs des bactéries (**Chaurasia et al., 1977 et Cowan, 1999**).

### A.6.1. Propriétés antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne des HE est la principale fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs.

Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leur toxines (**Caillet et al., 2009**).

#### A.6.1.1. Antivirales

Les virus sont assez sensibles aux HE à phénol et à monoterpène. Plus d'une dizaine HE possèdent des propriétés antivirales.

#### A.6.1.2. Antiparasitaires

Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites (**Purchon, 2001 ; Willem, 2002**).

### **A.6.1.3. Antifongique**

Les HE des plantes aromatiques sont connus pour avoir des propriétés antifongiques (**Pinto et al. 2007**).

Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxine chez les moisissures (**Caillet et al., 2009**).

## **A.6.2. Propriétés antioxydants**

Les HE contiennent des antioxydants comme les composés terpéniques et phénoliques. Cette propriété a été souvent vérifiée *in vitro* par des méthodes physicochimiques (**Bakkali et al., 2008**).

## **A.6.3. Régulatrices du système nerveux**

### **A.6.3.1. Antispasmodiques**

Les HE possédant des esters ou des éthers possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés comme HE d'Hélichryse.

### **A.6.3.2. Calmantes, anxiolytiques**

Les aldéhydes type citrals contenu par exemple dans HE de Mélisse ou celle de Verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil.

### **A.6.3.3. Analgésiques, antalgiques**

Les HE les plus connues pour leur action antalgiques sont les HE d'Eucalyptus citronné, de Gingembre, de Lavande vraie (**Purchon, 2001 ; Willem, 2002**).

## B. Les plantes étudiées

### B.1. *Thymus Ciliatus ssp eu-ciliatus*

#### B.1.1. Introduction

Plusieurs espèces de genre de thym se développent sauvages en Algérie, parmi quel *thymus ciliatus* (Desf.) Benth., qui est une espèce endémique dans le nord d'Afrique. Cette plante inclut trois sous-espèces : *Eu-ciliatus* Maire, *coloratus* d'espèce (Boiss d'espèce. et Reut.) Batterie. et *munbyanus* d'espèce (Boiss. et Reut.) Batterie.

Ce genre est distribué dans le Vieux Monde et sur les côtés de la terre verte de la région Macaronisienne (les Canaries, Madère et les Açores), l'ouest de la péninsule du Sinaï.

Cependant, la zone centrale de thymus est entouré la mer Méditerranée (**Morales, 1997 ; Pedersen, 2000 ; Zargari, 1990**), passant par les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya.

Il est abondant dans les régions semi arides et dans le nord, il pousse en Sibérie et en Europe nordique (**Sthal, 2002**). Nous retrouvons cette espèce végétale dans le nord d'Algérie (**Quezel et Santa, 1963**).

#### B.1.2. Description botanique

Le nom *Thymus* dérive du mot grec « *Thymos* » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente, 2001**) et possède une saveur amère et chaude (**Demerji, 2012**).

Cette plante aromatique qui appartient à la famille des Lamiaceae se trouve à l'état spontané, sous l'aspect d'un sous-arbrisseau très ramifié à la base, très feuillé qui présente un polymorphisme remarquable et pouvant atteindre 40cm de hauteur (**Bruneton, 1975**)

*T. Ciliatus* est répandu en broussaille et la pelouse, montre des petites feuilles vertes, avec le cil dehors. Les fleurs sont violacées ou rouges, plus de 1 cm de longueur (**Quezel et Santa, 1963**).

Connu sous le nom de Zaïtra, où sa présence nous a été signalée dans la région de Tlemcen, le Thym est rencontré dans les sols calcaires et argileux. En effet, il est caractéristique des matorrals. Il est commun dans les montagnes d'Algérie. Signalé que le

Thym est lié à *Quercus ilex*. Le Thym est très utilisé en phytothérapie. Il est très employé pour son arôme agréable. Il est aussi exploité en parfumerie et industrie pharmaceutique pour extraire du thymol (Alcaraz, 1991).

### B.1.2.1.Appareil végétatif

- ✚ **Racine** : système radicalaire pivotant étale. La multiplication se fait par rhizome.
- ✚ **Tige** : très ramifiée et ligneuse en sa partie inférieure.
- ✚ **Feuilles** : *T. ciliatus* présente de nombreuses petites feuilles florales peu dilatées et opposées. Sans stipules courtement pétiolées. Oblongues, glabre, mais généralement ciliées à la base, un peu enroulées sur les bords colorées par un vert.

### B.1.2.2.Appareil reproducteur

- ✚ **Fleur** : très grande, rouge ou violacée, dépassent 1cm de long (Quezel et Santa 1963).
  - **Corolle** : nettement bilabée.
  - **Androcée** : à quatre étamines didyname.
  - **Gynécée** : à deux carpelles soudés avec fausse cloison et style bifide gynobasique.
  - **Ovule** : anatrope.
- ✚ **Fruit** : c'est un tetrakène lisse, reste longtemps au calice desséché (Guy, 1967). Il est caractéristique des matorrals calcaires (Damerji ,2012).
- ✚ **Graine** : Exalbuminée.



Figure 1 : Thym (*Thymus ciliatus* ssp *eu-ciliatus*) (photo originale)

### B.1.3. Systématique et classification de *T. ciliatus*

L'identification du genre *Thymus* est assez difficile cela revient à la variabilité de l'espèce et ses hybrides (Quezel et Santa, 1963). Le tableau suivant nous donne une idée sur la systématique de *T. ciliatus*.

**Tableau2** : systématique de *T. ciliatus*(Trabut, 1935 ; Quezel et santa, 1963).

Unités taxonomiques :	Classifications :
Embranchement :	Phanérogames.
Sous-embranchement :	Angiospermes.
Classe :	Dicotylédones.
Sous-classe :	Gamopétales.
Série :	Gamopétales hypogynes.
Sous-série :	Division bicapitalées.
Ordre :	Tubi florales.
Sous-ordre :	Lamiales.
Famille :	Lamiacées ou Labiées.
Genre :	<i>Thymus</i> .
Espèce :	<i>T. ciliatus</i> .
Ssp :	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>eu-ciliatus</i>.</li> <li>➤ <i>coloratus</i>.</li> <li>➤ <i>Munbyanus</i></li> </ul>

**Tableau3** : les différentes appellations de *T. ciliatus* (Trabut, 1935 ; Quezel et santa, 1963)

Nom vulgaire	<u>Thym /Djertil</u>
Nom arabe	<u>Zaïtra</u>
Nom anglais	<u>Headed Thyme</u>
Nom berbère	<u>Azoukni</u>

### B.1.4. La composition de leur HE

La composition de 14 échantillons d'huile essentielle de *T. ciliatus* d'origine marocaine (sous-espèce non spécifique) a été rapportée par **Benjilali et al., (1987)**, ces auteurs ont constaté que cette composition est différente d'un échantillon à un autre.

**Tableau 4 :** Variation de composition des HE de *T. ciliatus* selon **Benjilali et al., (1987)**

<b>La composition :</b>	<b>Le pourcentage :</b>
Thymol	(0.3-29.3%)
Carvacrol	(0.4-21.7%)
acétate de $\alpha$ -terpinyl	(0-42.9%)
acétate géranylique	(0-21.7%)
butyrate géranylique	(0-26.7%)
Camphre	(0.4-28.4%)
Bornéol	(0.1-31.6%).

### **B.1.5. Utilisation thérapeutiques**

Le *T. ciliatus* est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes :

Les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, l'hypertension et les gastrites, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques. Il est aussi stomachique, expectorant et antispasmodique. En aromate ou en infusion, c'est un désinfectant des voies digestives, et peut s'utiliser en bain de bouche en cas d'inflammation des gencives et en gargarisme en cas d'irritation de la gorge ou d'angine. La tisane de thym est efficace pour soigner les infections respiratoires mais également pour drainer le foie, ce qui fait qu'il est recommandé par la naturopathie pour les personnes subissant une chimiothérapie (**Bown et al., 1995 ; Burt et al., 2007 ; Cantino et al., 1992 ; Cosentino et al., 1999 ; De Vincenzi et al., 2004 ; Didry et al., 1994 ; El Ajjouri et al., 2008 ; Goren et al ; 2003 ; Greuter et al., 1986 ; Grieve ,1979 ; Griffiths et al., 1992**).

Utilisé également pour le traitement de diverses maladies et se sont avérées pour posséder les activités pharmacologiques significatives (**Zargari ,1990 ; Duke, 1989 ; Newall et al., 1996**).

Cette herbe aromatique est employée dans la médecine folklorique pour ses effets diaphorétiques et de stimulant (**Belouad, 1998**). Elle a été également employée comme carminative, vermifuge diurétiques et urinaires (**Matta, 2007**). D'après **Dob et al., (2006 ; Marino et al., 1999 ; Ryman, 1992 ; Schwarz et al., 1996** l'activité antioxydant et antimicrobienne des membres du genre thymus ont été déterminées.

La population maghrébine utilise le *T. ciliatus* abondamment aussi bien dans la cuisine qu'en médecine à cause de leur arôme agréable. Mais Selon (**Bruneton, 1987**) en générale est très utilisé en phytothérapie, on l'emploi comme antifongique, antibactérien, et agirait même comme antiviral.

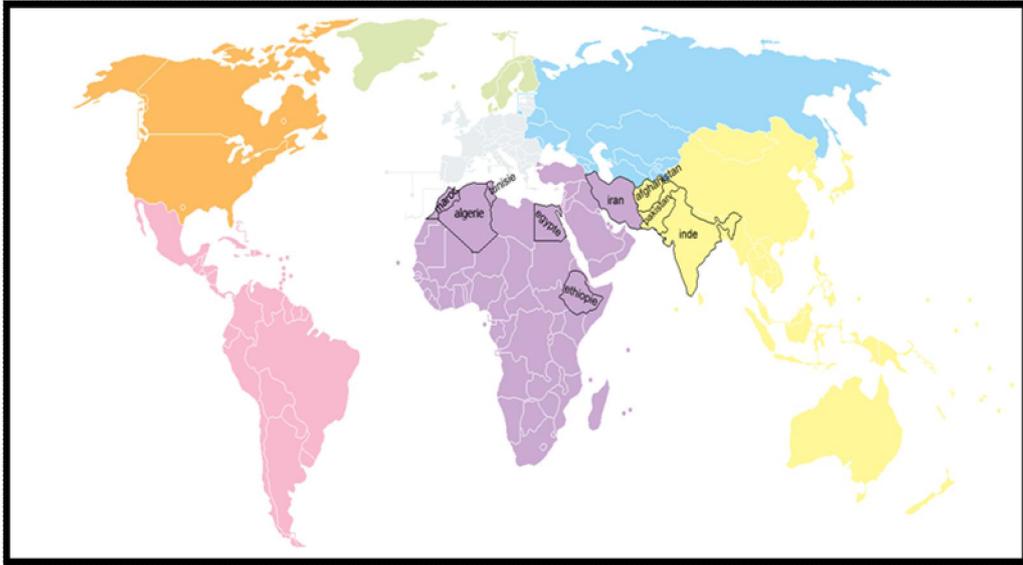
D'après **Tepea et al., (2005)** les usines du genre de thymus sont parmi les usines les plus populaires dans le monde entier, utilisé généralement en tant que thés de fines herbes, les aromatisants (condiment et épice), aromatiques, et les plantes médicinales.

## **B.2.Ammoïdes verticillata**

### **B.2.1.Présentation de la plante**

Est une plante odorante qui pousse spontanément dans le nord d'Afrique (Maroc, Algérie, Tunisie) ainsi qu'en Asie (Inde, Pakistan, Afghanistan). On la trouve généralement dans les champs, les pelouses les montagnes et dans les forêts (**Quezel et Santa, 1963**).

Cependant, les principaux pays cultivateurs sont l'Egypte, l'Iran et surtout l'Inde (**Quezel et Santa, 1963 ; Baytop et Sfitlipinar, 1986 ; Khajeh et al., 2004**). Elle appartient à la famille des apiacées. Son appellation dans notre pays est Nounkha ou Nûnkha tirée du nom Perse «Nankhah» qui est utilisée en Iran, comme aromate dans le pain. En effet, «Nan» et «Khah » signifient respectivement pain et goût (**Baytop et Sfitlipinar, 1986**).



**Figure 2 :** ( ——— ) Les régions de localisation d'*Ammoides verticillata* (<http://www.google.fr/images>).

Les graines de cette plante sont très utilisées dans les préparations culinaires (pain, rôti, légumes, soupes) grâce à leurs arômes forts (**Boulos, 1983**).

En Algérie, cette plante jouit d'une grande faveur populaire. En effet, elle est particulièrement très utilisée dans la préparation de la soupe d'escargot (**Kambouche et al., 2003**).



**Figure 3 :** *Ammoides verticillata* ( photo original).

### B.2.2. Nom scientifique

La dénomination usuelle de la plante est Ajowan et la désignation botanique est *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex. Turr., alors que la désignation botanique usuelle en France est *Carum copticum* Benth, et Hook.; *Ptychotis ajowan* D.C. ou bien *Trachyspermum copticum* Link (AFNOR, 1992).

### B.2.3. Nom vernaculaire

Cette espèce est connue sous les noms vulgaires :

Nounkha (Merrad, 1973).

Nunkha (Sijelmassi, 1991).

Nanoukha (Trabut, 1935).

Mais, elle est surtout connue dans le monde sous le nom suivant:

En Français: Ajowan (Wehmer, 1931 et AFNOR, 1992).

En Arabe: Taleb El Koubs (Narayana et al., 1967).

### B.2.4. Systématique d'*A. verticillata*

D'après Quezel et Santa (1963) ; Guinochet et Vilmorin, (1975) l'espèce est classée dans le tableau 5

**Tableau 5** : Systématique d'*A. verticillata*.

Embranchement :	Phanérogames ou Spermaphytes.
Sous embranchement :	Angiospermes.
Classe :	Dicotylédones.
Sous classe :	Dialypétales.
Ordre :	(Apiales).
Famille :	(Apiacées).

Genre :	<i>Ammoïdes (Ptychotis)</i>
Espèce :	<i>verticillata</i>

### B.2.5. Description botanique

Selon **Guinochet et Vilmorin, (1975)** cette espèce végétale est annuelle de 15-35 cm, très ramifiées, à souche filiforme, glaucescent à racines grêles pivotantes, tige dressée, striée, à nombreux rameaux étalés. Feuilles inférieures pétiolées sont à nombreux segments multifides verticillés, les supérieures pennatifides sont à segments linéaires. Les ombelles principales sont à 8-15 rayons. Fruit ovoïde est de moins de 1 mm de long (**Quezel et Santa, 1963**).

### B.2.6. Propriétés thérapeutiques de cette plante

Les plantes appartenant à la famille des ombellifères ont une vaste utilisation dans les différents domaines (condiments alimentaires, médecine traditionnelle...) à cause de leurs propriétés thérapeutiques, reconnues par les anciens. Mais elle est considérée principalement comme une plante médicinale pour traiter les maladies du tube digestif (**Abdoul et al., 1989**).

Une enquête thérapeutique a été réalisée auprès des herboristes et des gens de la campagne de la région de Tlemcen. Les informations qu'on a pu recueillir, ont montré que cette plante a des usages culinaires et surtout thérapeutiques et sont résumés dans le tableau 6 (**Bekhechi, 2002**).

**Tableau 6 :** Enquête thérapeutique effectuée au niveau de la région de Tlemcen sur la plante d'*A. verticillata* (**Bekhechi, 2002**).

<b>Parties utilisées</b>	<b>Indications</b>	<b>Mode d'emploi</b>
Plante entière	Fièvre Rhumes grippes Maladies broncho- Pulmonaires	Bouillir de l'eau avec la plante, mettre une serviette sur la tête, et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite, boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se coucher.
	Règles douloureuses	Infusion
	Régulateur dermique	Décoction
	Antispasmodique Affections rénales Fièvre typhoïde Antipyrétique Dépuratif	Décoction ou infusion
	Douleurs gastriques Asthme Parasites intestinaux	Mélanger la plante lavée, séchée et broyée avec du miel. Prendre 1 à 2 cuillerées par jour.
	Céphalée migraines	Décoction ou infection avec un citron. Boire une tasse le soir avant de se coucher.
	Sinusite	Mettre la plante dans de l'eau bouillante, laisser infuser, ensuite mélanger avec du henné et mettre sur les endroits atteints (sinus osseux de la face)
	Rafraîchissante	Faire une décoction avec une tranche de citron, laisser refroidie puis mettre au réfrigérateur (boire comme une boisson rafraîchissante).
Feuilles et fleurs	Condiment culinaire	Ajouter ces parties de la plante broyées dans des soupes ex: soupe d'escargot.  Conserve plus longtemps les aliments et empêche La formation des moisissures, ex : les olives.
Feuilles		

	Irritations dermiques Abès-furoncle	Faire bouillir dans très peu d'eau, une poignée de feuilles fraîches. Lorsque le liquide est presque complètement évaporé, mettre les feuilles cuites sur une serviette et les écraser pour en supprimer le suc. Laisser refroidir le cataplasme, puis l'appliquer sur la partie atteinte.
<b>Racines</b>	Diarrhée	Faire bouillir pendant 20 minutes dans un litre d'eau des racines séchées au soleil. Filtre la décoction, la sucrer avec un peu de miel et la boire en trois fois au cours de la journée.
	Diurétique	Mettre dans un litre d'eau bouillante des racines. Filtrer, quand l'infusion est devenue tiède, sucrer avec un peu de miel. Consommer le tout dans la journée.

Les HE d'*A. verticillata* ont un champ d'action à spectre très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries (**Abdelouahid et Bekhechi, 2002**) que celle des levures et des moisissures (**Srivastava et al., 1999; Abdelouahid et Bekhechi, 2002**).

D'ailleurs, elle est employée dans la fabrication des bains de bouche et des dentifrices car elle est très riche en thymol. Ce dernier est également très utilisé en médecine contre la toux, l'irritation de la gorge et dans des cas de choléra (**Bhargava et Haksar, 1961 ; Joshi et al., 1963**).

*Chapitre 2 :*

*L'activité  
antioxydante*

## Antioxydant et l'activité antioxydante

### 1. Définition d'antioxydant

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (**Boyd et al., 2003**).

Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (**Dupin et al., 1992 ; Neve, 1995**).

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'oxygène singulier ( $IO_2$ ) et les radicaux hydroxyle (HO), collectivement connu sous le nom d'oxygène actif (**Boyd et al., 2003 ; Hadi, 2004**)

Selon **Neve (1995)** et **Berger (2006)**, la stabilité de la structure des antioxydants leur permet d'agir pour former des produits finis non radicaux en:

- ✚ Réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras.
- ✚ Absorbant l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur.
- ✚ S'oxydant lui-même plus rapidement qu'un substrat à risque d'oxydation.

### 2. Types d'antioxydant

Les antioxydants sont classés selon leur origine en antioxydants naturels ou synthétiques et selon leur mode d'action en antioxydants primaires ou secondaires.

#### 2.1. Antioxydant synthétique

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la gallate propylée (PG) et le tétra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Lisu et al., 2003**).

## 2.2. Antioxydant naturel

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydant in vivo. Elles incluent le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Svoboda et Ampson, 1999 et Mohammedi, 2006).

### 2.2.1. Sources naturelles d'antioxydant

Il est bien évident qu'une alimentation saine et équilibrée assure un apport considérable d'antioxydant naturel pour le bon fonctionnement de l'organisme humain, surtout lors de la consommation des fruits, des végétaux, des céréales, de la viande et du poisson. Ils existent d'autres sources de composés antioxydants bien intéressantes, dont l'application peut s'étendre à des domaines comme la pharmacologie, la microbiologie médicale et clinique, la phytopathologie et la conservation des aliments (Daferera et al., 2000).

#### 2.2.1.1. Huile d'olive

Les composés phénoliques présents dans l'huile d'olive sont une classe très importante d'antioxydants qui affectent non seulement la stabilité de l'huile, mais aussi ses propriétés biologiques et sa qualité nutritionnelle (Visioli et al., 2004).

Parmi ses composés phénoliques, on trouve le 4-acétoxy-éthyl-1,2-dihydroxybenzène, le 1-acétoxy-pinorésinol, l'apigénine, l'acide caféique, les acides coumariques, de l'acide férulique, l'acide gallique, l'acide homovanillique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'hydroxytyrosol et ses dérivés, le lutéoline, l'oleuropéine, le pinorésinol, l'acide protocatéchique, l'acide sinapique, l'acide syringique, le tyrosol et ses dérivés.

Les formes dialdéhyde de l'acide linoléique, liées à l'hydroxytyrosol et tyrosol, le 1-acétoxy-éthyl-1, le 2-dihydroxybenzène, le 1-acétoxy-pinorésinol, le pinorésinol, l'aglycone d'oleuropéine, l'aglycone de Hgstroside et le lutéoline, sont les phénols ayant la concentration la plus élevée dans l'huile d'olive.

Nombre de ces composés phénoliques, principalement l'hydroxytyrosol et ses dérivés, sont examinés en détail dans le but d'établir une relation entre les apports alimentaires et le

risque de maladies cardio-vasculaires ou le cancer. Ils ont pu révéler une activité contre le peroxyde d'hydrogène et une capacité à prévenir la production d'espèces réactives.

de l'oxygène. Tandis que leur capacité de récupération des espèces réactives de l'azote tel que le peroxyde de nitrite suggère un effet protecteur contre la nitration de la tyrosine et les dommages de l'ADN, les mécanismes par lesquels les phénols d'huile d'olive aident à protéger contre divers troubles cardiovasculaires, sont à leur tour expliqués, in vitro, par leur effet inhibiteur sur la production d'éicosanoïdes et sur l'agrégation plaquettaire.

### **2.2.1.2. Olives de Table**

Les olives de tables restent des sources considérables d'antioxydants et plusieurs types d'olive de table, comme les olives noires grecques ou vertes espagnoles, semblent contenir un taux plus élevé en hydroxytyrosol qui peut aller jusqu'à 170 mg / kg, et un niveau de lutéoline, qui peut être déterminé, dans le cas des olives noires, à un taux entre 25 et 75 mg/kg. (*Boskou et al., 2005*).

### **2.2.1.3. Huiles végétales**

En plus de l'huile d'olive, une source riche en antioxydants naturels, certaines huiles végétales pressées à froid sont de bonnes sources de tocophérols et de caroténoïdes. Ces huiles possèdent une capacité remarquable à piéger les radicaux libres et à absorber le radical oxygène, lorsqu'elles sont testées soit avec le DPPH (1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl) soit avec l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azino-bis - (3-éthylbenzthiazoline-6-sulphonique) dans le test d'ORAC. (*Besbes et al., 2004 ; Yu et al., 2005*)

### **2.2.1.4. Herbes et épices**

Dans l'alimentation, le thé et les infusions sont considérés comme une source importante de composés phénoliques antioxydants, et en particulier, le thé noir et vert et les infusions de roibos. La plupart des extraits d'herbes traditionnelles sont préparés à partir de plantes de la famille Lamiaceae. La même chose pour les épices, utilisées en préparations culinaires, elles sont connues, depuis longtemps, non seulement par leur effet antioxydant, mais aussi par leurs innombrables propriétés médicales et traitantes. L'attention a été accordée à une grande variété d'herbes pour étudier les antioxydants phénoliques qu'ils contiennent et leur capacité.

Pour l'exemple d'infusions de plantes riches en phénols on trouve la menthe, le dictamnus, le thé de la montagne, la camomille, l'eucalyptus, le tilleul et la mauve (**Kroyer, 2005**). L'origan est riche en acide rosmarinique, en flavonols, et en flavones. L'achillée présente aussi un taux considérable des flavonoïdes et des tannins (**Exarchou et al., 2002; Kosar et al., 2003**)

On trouve aussi d'autres épices contenant toute une variété d'antioxydant comme le sauge qui contient, en plus des flavonoïdes et des acides phénoliques qu'on trouve déjà dans l'artichaut, du nosol, de l'acide carnosique, du latéoline et du rosmanol, (**Trouillas et al., 2003**). Le romarin et la sarriette contiennent des composés intéressants : de l'acide carnosique du carnosol, de l'acide rosmarinic et du rosmanol ont été déterminés dans le romarin, et de l'acide rosmarinique, du carnosol, du carvacrol et des flavonoïdes ont été, aussi, définis dans la sarriette. (**Yanishlieva-Maslarova et al., 2001; Manach et al., 2004**).

### **2.2.1.5. Sous-produits agricoles**

Dans le but d'évaluer et d'exploiter des sous-produits agricole, de nombreux travaux publiés ont mis l'accent sur la valeur résiduel des grignons d'olive, du margine, des pelures d'agrumes, des pelures de pomme de terre et des feuilles d'olivier (**Civantos, 1998**).

### **2.3. Antioxydant synergiste**

Ce sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, et dont les propriétés apparaissent surtout en présence d'autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés (lysine et arginine), de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer et le cuivre qui ont un effet pro-oxydant à faibles doses. Certains produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes, et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées (**Morelle, 1988**).

### **2.4. Antioxydant primaire**

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'oxydation lipidique en convertissant les produits d'oxydation lipidiques (L, LOO, LO) en produits plus stables (LH, LOOH, LOH) grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs. Le radical (A) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable (**Kim et Lee, 2004**).

## 2.5. Antioxydant secondaire

Selon **Gordon (1990)**, les antioxydants secondaires sont des composés qui retardent L'oxydation lipidique selon différents modes d'action :

- ✚ Absorption des radiations ultraviolettes.
- ✚ Inactivation de l'oxygène singulet.
- ✚ Chélation des métaux.
- ✚ Décomposition des hydro peroxydent.

## 3. Toxicité des antioxydants

Les premières indications des effets possibles des antioxydants sur la santé datent des années 1970, alors que des chercheurs ont constaté que l'incidence réduite de certains cancers et de maladies coronariennes allait pair avec une diète riche en fruits, légumes et herbes. Or, il s'avère que ces végétaux regorgent d'antioxydant (**Berger, 2006**). L'intégration de molécules d'antioxydants à des denrées alimentaires constitue tous de même un défi. On reconnaît la fragilité à la chaleur de la vitamine C, qui est par ailleurs l'un des plus puissants antioxydants (**Lehucher et al., 2001**).

L'ajout de vitamine E peut également poser des problèmes si on n'a pas prévu un emballage qui prévient l'oxydation par la lumière. De plus la surconsommation d'antioxydant peut entraîner une déficience des systèmes naturels de protection de l'organisme (système immunitaire) et cela peut nuire la santé en altérant de nombreuses fonctions vitales. Certains antioxydants sont responsables aussi à des réactions allergiques, des hypersensibilités, des troubles digestifs, etc. (**Roberfroid, 2002**).

Selon **Alais et al., (2003)**, les produits de synthèse ont été beaucoup étudiés sur le plan de la toxicologie chez l'animal. Des résultats variant avec les espèces ont été donnés : effet sur les poumons, le foie, la thyroïde, la coagulation sanguine ou l'action cancérigène. On ne peut les extrapoler à l'homme, mais on est porté à réduire leur emploi dans l'alimentation humaine.

## 4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire (**Marc et al., 2004**).

Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydant décomposée, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agent antioxydant. Une des méthodes utilisées pour la détection d'antioxydant est la chromatographie sur couche mince. (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (**Li et al., 1999**).

En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydant, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydant. La génération de radical libre est reliée avec l'oxydation dans les aliments et les systèmes biologiques. Les méthodes principales comportent, le balayage des radicaux de superoxyde ( $O_2$ ), le balayage de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le balayage d'acide hypochloreux (HOCl) (**Sanchez, 2002**), le balayage du radical d'hydroxyle (HO) ou le balayage du radical du peroxyde (ROO). Parmi ces méthodes, la méthode de PIEGE (paramètre total d'antioxydant de radical en piègeage) (**Brasseur et al., 1995**), la méthode d'ORAC (capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (**Cao et al., 1993**), la méthode d'ABTS (le balayage du radical 2,2-azinobis-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate) (**Duthie et al., 1991 ; Maamri, 2008**), le balayage du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (la méthode du radical DPPH) (**Blois, 1958 ; Uchiyama et al., 1968**), la méthode de DMPD (le balayage du radical N,N'-p-di-méthylque-phénylènediamine) (**Li et al., 1994**), ou la méthode de Photochimiluminescence (PLC) (**Magin et al., 2000**).

# *Chapitre 3 :*

## *L'activité hémolytique*

## 1. L'hémolyse

D'après **Aguilar (2007)**, l'hémolyse est le phénomène irréversible par lequel les globules rouges (érythrocytes ou hématies) sont détruits et libèrent leur contenu hémoglobinique dans le plasma. Et quand leur durée de vie est de moins de 100 jours, plutôt que de 120 jours, qui est un laps de temps normal. Une anémie va apparaître si la moelle ne réussit pas à compenser (**Ucar, 2002**).

L'hémolyse peut être causée par des facteurs extrinsèques tels une réponse anormale du système immunitaire, la formation de caillots dans les petits vaisseaux sanguins, certaines infections et les effets secondaires de certains médicaments (céphalosporines, anti-inflammatoires non stéroïdes, la pénicilline et ses dérivés, phenazopyridine, quinidine, lévofloxacine) (**Mintzer et Billet, 2009**).

La destruction des érythrocytes est un phénomène normal qui a lieu dans la rate lorsque les globules rouges, en fin de vie, y sont détruits et éliminés (**Olivier, 2010**).

## 2. Le globule rouge

Les globules rouges (GR) sont des cellules matures de la lignée érythrocytaire, à la forme d'une lentille biconcave. Son diamètre est de 7 p.m. La forme particulière du GR lui permet d'avoir une plus grande surface par rapport à son volume que la forme sphérique, ce qui favorise les échanges d'oxygène. La durée de vie moyenne des GR est de 120 jours (**Aguilar, 2007**).

Selon **Braham Jmili, (2012)**, l'hématie est une cellule anucléée qui comprend donc seulement une membrane et un cytoplasme, à l'état normal tous les GR ont sensiblement même forme, même diamètre, même coloration et toute modification de ses critères traduit un phénomène pathologique.



Figure 4 : les globules rouges (Encarta, 2009).

### 3. Les signes biologiques de l'hémolyse

Selon **Guillon et al., (2008)**, La destruction prématurée des GR (hémolyse) induit par :

- ✚ Une augmentation de la bilirubine libre ou indirecte ou non conjuguée (catabolisme de l'hémoglobine).
- ✚ Un effondrement de haptoglobine.
- ✚ Une augmentation des LDH (permet de quantifier le degré d'hémolyse intravasculaire).
- ✚ Une augmentation des réticulocytes (souvent > 150 000/mm<sup>3</sup>).
- ✚ Hémoglobinurie, hémosidérinurie : uniquement dans les hémolyses intravasculaires.

### 4. Les signes cliniques

- ✚ La pâleur, Asthénie, Dyspnée (essoufflement), Vertiges, Céphalées, Tachycardie, ictère, fièvre)
- ✚ Arthralgies (douleurs dans les articulations).
- ✚ Douleurs dans l'abdomen.
- ✚ Hypotension artérielle.
- ✚ Vomissements, diarrhée.
- ✚ Urines rouges (bon signe sous anesthésie générale).

✚ Etat de choc (déficit de fonctionnement de certains organes) en cas d'hémolyse importante s'accompagnant d'une anurie (absence d'urine), ou d'une diminution de la quantité des urines (**Benjamin et al., 2006**).

## 5. Les types d'hémolyse

### 5.1. Hémolyse intratissulaire

Les GR âgés, après une durée de vie normale de 120 jours, sont phagocytés par les macrophages du système des phagocytes mononucléés. Chez le sujet normal, la majorité des GR sont détruits dans les macrophages de la moelle osseuse (minimum 50%). Le reste de l'hémolyse se répartit dans l'organisme, en particulier dans la rate et le foie.

Cette phagocytose porte sur des GR dont le vieillissement s'est traduit par:

- ✚ Des modifications biochimiques : diminution du contenu enzymatique, ralentissement métabolique, perte des lipides membranaires, phénomènes oxydatifs.
- ✚ Des modifications morphologiques (tendance à la sphérocité par réduction de la surface membranaire et/ou hyperhydratation).
- ✚ Des modifications de la plasticité (diminution de la déformabilité des GR entraînant une stagnation dans les capillaires) (**Aguilar, 2007**).

Ce type d'hémolyse se caractérise par :

- ✚ Hyperbilirubinémie non conjuguée (>17mmol/L).
- ✚ Libération d'Hb.
- ✚ Chute de l'haptoglobine modérée.

Les (GR) vieillissent disparaissent du torrent circulatoire par un mécanisme intratissulaire de (85%) (**Marc, 2013**).

### 5.2. Hémolyse intravasculaire

Une faible partie de l'hémolyse physiologique se déroule au sein même de la circulation sanguine. Dans ce cas, l'Hb est libérée dans le plasma où elle forme un complexe avec l'haptoglobine, synthétisée par le foie. Ce complexe est capté par l'hépatocyte au niveau duquel l'Hb est dégradée. La taille du complexe haptoglobine-Hb ne lui permet pas de traverser le glomérule rénal (**Aguilar, 2007**).

Se type d'hémolyse se caractérise par :

- ✚ Chute de l'haptoglobine et hémoglobinémie et hémoglobinurie.
- ✚ Élévation des LDH.
- ✚ Élévation inconstante de la bilirubine non conjuguée.

### 5.3. Hémolyse pathologique

Elle peut être due à deux principaux mécanismes :

- Soit une anomalie du GR : hémolyses corpusculaires ou globulaires c'est-à-dire la destruction des hématies provenant de sa fragilité et qui correspond à :
  - ✚ Une anomalie constitutionnelle de l'hémoglobine exemple: anomalie de structure (hémoglobinopathies), anomalie quantitative de la synthèse des chaînes de globine (thalassémies), Drépanocytose (en faucille) caractérisée par la présence d'Hb.
  - ✚ Une anomalie constitutionnelle de la membrane du GR : Micro-sphérocytose (augmentation de la perméabilité au Na<sup>+</sup> et à l'eau).
  - ✚ Déficit enzymatique du GR exemple : déficit en G6P, déficit en pyruvate kinase : défaut de régénération de l'ATP.
- Soit à une agression extrinsèque des hématies : hémolyses extracorpusculaires (**Aguilar, 2007**) C'est-à-dire extérieur à l'hématie et qui caractérise par :
  - ✚ Agression directe de l'hématie par une toxine bactérienne, animale, chimique ou par un parasite.
  - ✚ Rigidité anormale acquise de la membrane du globule rouge : anémies hémolytiques auto-immunes.
  - ✚ Rupture des hématies normales sur un obstacle : prothèses valvulaires, (microangiopathie thrombotique) (**Marc, 2013**).

*matériel*  
*et*  
*méthodes*

## 1. Matériel végétal

### 1.1. Choix des plantes

Les plantes étudiées *A. verticillata* et *T. ciliatus* ont été choisies essentiellement sur la base de leur intérêt et leur fréquence d'emploi grâce à l'enquête ethno-pharmacologique effectuée au cours de cette étude auprès des tradi-thérapeutes, des herboristes et des personnes utilisant ou vendant les plantes médicinales (Tefiani, 2015).

### 1.2. Provenance des plantes *A. verticillata* et *T. ciliatus*

La récolte des espèces *A. verticillata*, *T. ciliatus* ont été effectuées dans la région de Tlemcen plus précisément au lieu-dit « kerrar » Remchi. Les échantillons soumis à cette étude ont été prélevés et traité selon le **Tableau 7**.

**Tableau 7:** Lieux de prélèvement et caractéristiques de l'échantillon étudié.

Espèces	Lieux de récolte	Date de récolte	Parties utilisées	Nombres de jours de séchage à l'air libre et à l'abri du soleil
<i>A. verticillata</i> et <i>T. ciliatus</i>	« kerrar » Remchi	11/06/2012	Seule la partie aérienne (feuilles et fleurs, tige)	10 jours

### 1.3. Situation géographique de la zone de recolte

Les principaux facteurs géographiques qui influent de façon significative sur la végétation en Algérie, comme partout ailleurs, sont le climat (précipitations, températures, vent, radiation solaire), le sol et l'altitude. En outre, c'est surtout l'équilibre délicat de ces facteurs qui joue un rôle primordial à la fois dans le développement individuel des plantes et dans leur environnement (Béniston, 1984).

La situation géographique de la région de Remchi est représentée dans le **Tableau 8**.

**Tableau 8 :** Lieu de récolte de la plante et caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la station de récolte.

Plantes	Lieu de récolte	Localisation	Nature du sol	Etage bioclimatique	Altitude (m)	Latitude (Nord)	Longitude (Ouest)
<i>Ammoïdes verticillata</i> / <i>Thymus ciliatus</i>	Remchi	Bassin de Tlemcen	Argileux limoneux	Aride, chaud	220	35°	120°



Echelle:  $\frac{1}{500000}$

Figure 5 : Carte géographique de la station d'étude (Encarta, 2009).

## 1.4. Huiles Essentielles

### 1.4.1. Procédé d'extraction des HE

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme, cependant comme dans toute méthode d'extraction, les conditions optimales d'utilisation d'une méthode d'extraction dépendent du rendement en HE. Plusieurs paramètres tels que la quantité du matériel végétal, l'état du matériel végétal, la quantité d'eau introduite, la durée de l'extraction, ... influent sur le rendement. Il a été vérifié que le rendement diminue fortement, d'une part quand la charge du matériel végétal augmente, et d'autre part quand on introduit une quantité d'eau trop importante (Boutedjiret, 1990).

Dans cette étude, la méthode d'extraction utilisée est l'hydrodistillation. L'extraction des HE a été effectuée au niveau du laboratoire pédagogique de plantes médicinales, photochimie et pharmacognosie du département des sciences agronomiques et des forêts.

#### Hydrodistillation

100 g de la plante sèche et éventuellement broyée, sont introduits dans un ballon d'un litre en verre à 3 cols, imprégné d'eau distillée, placé au-dessus d'un chauffe ballon et surmonté d'une colonne en verre, celui-ci est relié à un réfrigérant qui communique directement à une ampoule à décanter pour la récupération du distillat. L'ampoule est reliée au ballon par un tuyau en plastique qui permet le retour de l'eau évaporée et condensée au ballon **figure 6**. La durée moyenne de l'extraction est d'environ 3 heures.



**Figure 6:** le montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction des HE (Photo originale).

#### 1.4.2. Conservation des HE

Pour éviter toute dégradation des HE due à l'action de l'air et de la lumière, nos échantillons ont été conservés jusqu'à leur utilisation au réfrigérateur à 4°C dans des tubes fumés en verre stériles et bien fermés.

#### 1.4.3. Détermination du rendement en HE

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse végétale sèche à traiter (**Carré, 1953**). Le rendement en HE est exprimé par la formule suivante :

$$R^{mt} \% = m_1 \cdot 100 / m_0$$

$R^{mt}$  : rendement en HE exprimé en pourcentage (%).

$M_1$  : masse en (g) d'HE.

$M_0$  : masse en (g) de la matière végétale traitée.

Le poids des HE est obtenu par différence de pesée du tube taré sur la balance analytique. Pour la même station, nous avons pratiqué plusieurs extractions.

# **Activité antioxydante**

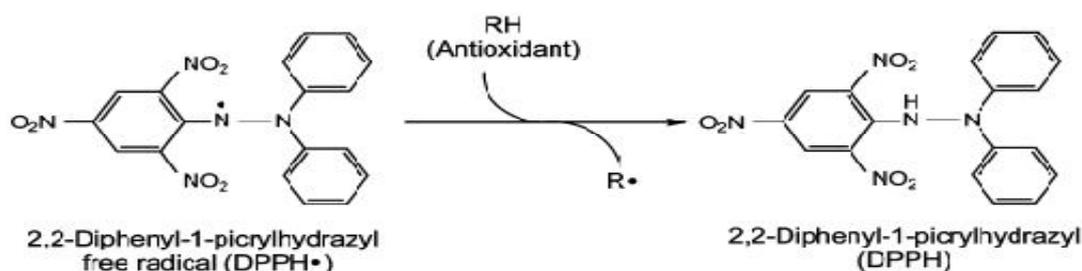
## 2. Activité antioxydante

### 2.1. Piégeage du radical DPPH

La méthode de piégeage du radical de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH) a été décrite pour la première fois par **Blois (1958)**.

#### 📌 Principe

A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons (**figure 6**). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Moon et Shibamoto, 2009**).



**Figure 7 :** Réaction entre le radical DPPH et l'antioxydant pour former le DPPH stable (**Moon et Shibamoto, 2009**).

#### 📌 Procédure

La méthode utilisée pour l'évaluation du piégeage du radical DPPH par les HE des différentes plantes étudiées (*A. verticillata*, *T. ciliatus*) est celle décrite par **Dandlen et al. (2010)**.

Après la préparation des dilutions d'huiles essentielles dans de l'éthanol à 96% (v/v), on prend 25µL de chaque qu'on met dans un tube Eppendorf et on additionne 975 µl de la solution de DPPH (à 60µM). Le mélange réactionnel est immédiatement agité avant d'être placé pendant 60 min à l'obscurité et à la température ambiante du laboratoire. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu 160-Ultraviolet (Tokyo, Japan) contre un control négatif (contenant de l'éthanol au lieu de HE). Chaque test est répété trois fois.

Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé suivant la formule :

$$PI = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

Avec :

PI: pourcentage d'inhibition.

A<sub>0</sub> : absorbance du control (sans échantillon).

A<sub>1</sub> : absorbance de l'échantillon après 60 min.

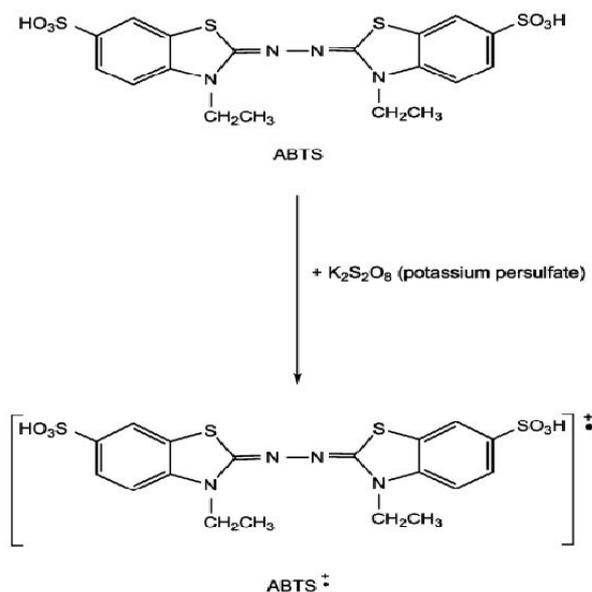
L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC<sub>50</sub>). Une faible valeur d'IC<sub>50</sub> correspondant à une grande efficacité d'HE.

## 2.2. Piégeage du radical ABTS

### Principe

Dans la méthode ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>. L'obtention du radical cation ABTS résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation qui est la peroxydase metmyoglobine (Miller et Rice Evans, 1997) en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou d'un oxydant, le dioxyde de manganèse (Benavente et al., 2000 ; Miller et al, 1996) ou le persulfate de potassium (figure 7) (Moon et Shibamoto, 2009).

Cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration verte bleue intense. En présence d'un donneur d'hydrogène (agent antioxydant), le passage du radical ABTS à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de cette coloration mesurée à une longueur d'onde de 734 nm (Lien et al, 1999 ; Re et al., 1999).



**Figures 8 :** Formation de l'ABTS<sup>•+</sup> par un oxydant persulfate de potassium (Moon et Shibamoto, 2009).

### ✚ Procédure

Suivant le protocole de **Aazza et al., (2011)** le radical ABTS est produit par réaction entre une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, 2.45mM), utilisé comme oxydant. Ce mélange est agité pendant 16 h à l'obscurité puis dilué par l'éthanol jusqu'à obtenir une absorbance de 0.700 à 734 nm.

Un volume de 990 µl de cette solution d'ABTS est ensuite mélangé avec 10 µl d'HE à différentes concentrations. Après 6 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu 160-UV (Tokyo, Japan) contre un blanc (témoin négatif). Le calcul du pourcentage d'inhibition permet d'exprimer cette activité antiradicalaire en IC<sub>50</sub> comme décrit précédemment pour le DPPH.

## 2.3. Piégeage du radical hydroxyle

### ✚ Principe

L'hydroxyle (OH) est le radical libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre suivant la réaction de Haber Weiss (**Castro et Freeman, 2001**). Ce radical possède un électron libre avec un potentiel de réduction plus élevé (2310 mV) qui lui permet de réagir avec les lipides, les phospholipides des membranes

cellulaires, les protéines, les polypeptides et l'ADN particulièrement la thiamine et la guanine ce qui cause des dégâts à la cellule (Siddhuraju et Becker, 2007 ; Alam et al., 2013).

In vitro, la capacité à piéger le radical hydroxyle par les extraits des plantes est basée sur la réaction de Fenton en mesurant la formation du radical OH et son effet sur l'oxydation et la dégradation de molécules biologiques telles que le désoxyribose de l'ADN. Dans cette technique le système implique l'autoxydation du complexe  $\text{Fe}^{2+}$ -EDTA dans un milieu aqueux pour former  $\text{O}_2$ , qui est rapidement dismuté en  $\text{H}_2\text{O}_2$  à pH 7.4. Après, ce dernier interagit avec  $\text{Fe}^{2+}$  pour former les radicaux OH en présence de l'acide ascorbique comme catalyseur.



Les  $\text{OH}^\bullet$  générés, qui ne sont pas piégés, attaquent et dégradent le désoxyribose et les produits de dégradation sont révélés par l'acide thiobarbiturique en formant un chromogène rose lors du chauffage dans un milieu acide. Notant que, le rôle d'ascorbate est la réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  et cela provoque la réaction de Fenton (Halliwell et al., 1987).

### Procédure

Cette activité est étudiée en mesurant leurs capacités à prévenir la dégradation oxydative du désoxyribose, selon un test développé par Lopes et al., (1999). Une prise d'essai de 25  $\mu\text{L}$  d'HE à différentes concentrations est mise en présence d'un mélange réactionnel contenant les réactifs suivants: 100  $\mu\text{L}$  de sulfate ferreux ( $\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ , 10 mM), 100  $\mu\text{L}$  d'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA, 10 mM), 500  $\mu\text{L}$  de désoxyribose ( $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_4$ , 10 mM), 900  $\mu\text{L}$  de solution tampon phosphate (0.1 M, pH 7.4) et 200  $\mu\text{L}$  de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 10 mM) à 37°C pendant 60 min. La réaction est arrêtée par addition de 1 mL de 2.8% (p/v) d'acide trichloracétique (TCA) et de 1mL de 1% (p/v) d'acide thiobarbutirique (TBA), suivi d'un chauffage dans un bain d'eau bouillante pendant 15 min. Après refroidissement de l'échantillon, l'absorbance est mesurée à 532 nm. Les résultats permettent de calculer le pourcentage d'inhibition et d'exprimer cette activité antiradicalaire en  $\text{IC}_{50}$  comme décrit précédemment pour le DPPH.

# **Activité hémolytique**

### 3. Evolution de l'effet hémolytique

Les tests d'activité hémolytique des extraits des HE de la partie aérienne de la plante (feuilles , fleur et tige) ont été réalisés in vitro sur une suspension du sang humain dans le tampon phosphate saline (PBS).

#### 3.1. Préparation de PBS (phosphate buffered saline) à $\text{pH} = 7,4 \pm 0,02$

Nous avons préparé 1 litre d'une solution tampon phosphate saline (PBS) par l'utilisation des composés suivants avec les concentrations qui correspondent : NaCl (137mM), KCl (2,7mM),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (8mM),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2mM) (Mohan, 2006).



Figure 9 : la solution de PBS(Photo originale).

#### 3.2. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang est prélevé dans des tubes héparine à partir d'un donneur unique et sain. Le sang est centrifugé à 2500 tour / minute, après élimination du plasma le culot est lavé 2 fois par PBS puis, suspendu à nouveau dans ce même volume de plasma éliminé.



Figure 10 : la suspension érythrocytaire(photo originale).

### 3.3. Préparation des extraits

Les différentes concentrations d'extraits hydroalcoolique sont préparées dans PBS à  $(7,4 \pm 0,02)$ . Les concentrations utilisées sont  $(0, 000135\mu\text{L}/\text{mL}, 0,00041\mu\text{L}/\text{mL}, 0,0012\mu\text{L}/\text{mL}$  et  $0,0037\mu\text{L}/\text{mL}, 0,0111\mu\text{L}/\text{mL})$ .

#### L'effet hémolytique

Le test d'effet hémolytique de la plante étudié est réalisé selon la méthode de **(Guo-Xiang Li et Zai-Qun Lui, 2007)**.

- ✚ Mettre dans des tubes à hémolyse 1980 $\mu\text{l}$  de la suspension érythrocytaire préparé avec 20 $\mu\text{l}$  de l'extrait à différentes concentration  $(0, 000135\mu\text{L}/\text{mL}, 0, 00041\mu\text{L}/\text{mL}, 0, 0012\mu\text{L}/\text{mL}$  et  $0, 0037\mu\text{L}/\text{mL}, 0, 0111\mu\text{L}/\text{mL})$ .
- ✚ Incuber les tubes dans l'incubateur agitateur à 37°C durant 60 min.
- ✚ Prélever 500  $\mu\text{l}$  chaque 15 min durant 60 min.
- ✚ Ajouter 1, 5 ml de PBS.
- ✚ Mélanger les tubes délicatement.
- ✚ Arrêter la réaction avec un bain glaçon.
- ✚ Centrifuger les tubes à 2500 tour / minute durant 10min.
- ✚ Lire l'absorbance de chaque tube à 548nm à l'aide d'un spectrophotomètre ultraviolet Visible, contre un blanc contenant du PBS.

Un tube témoin négatif est préparé dans les mêmes démarches expérimentales. Il est composé de 500  $\mu\text{l}$  de suspension érythrocytaire et 1500  $\mu\text{l}$  de solution tampon de PBS, en absence d'extrait.

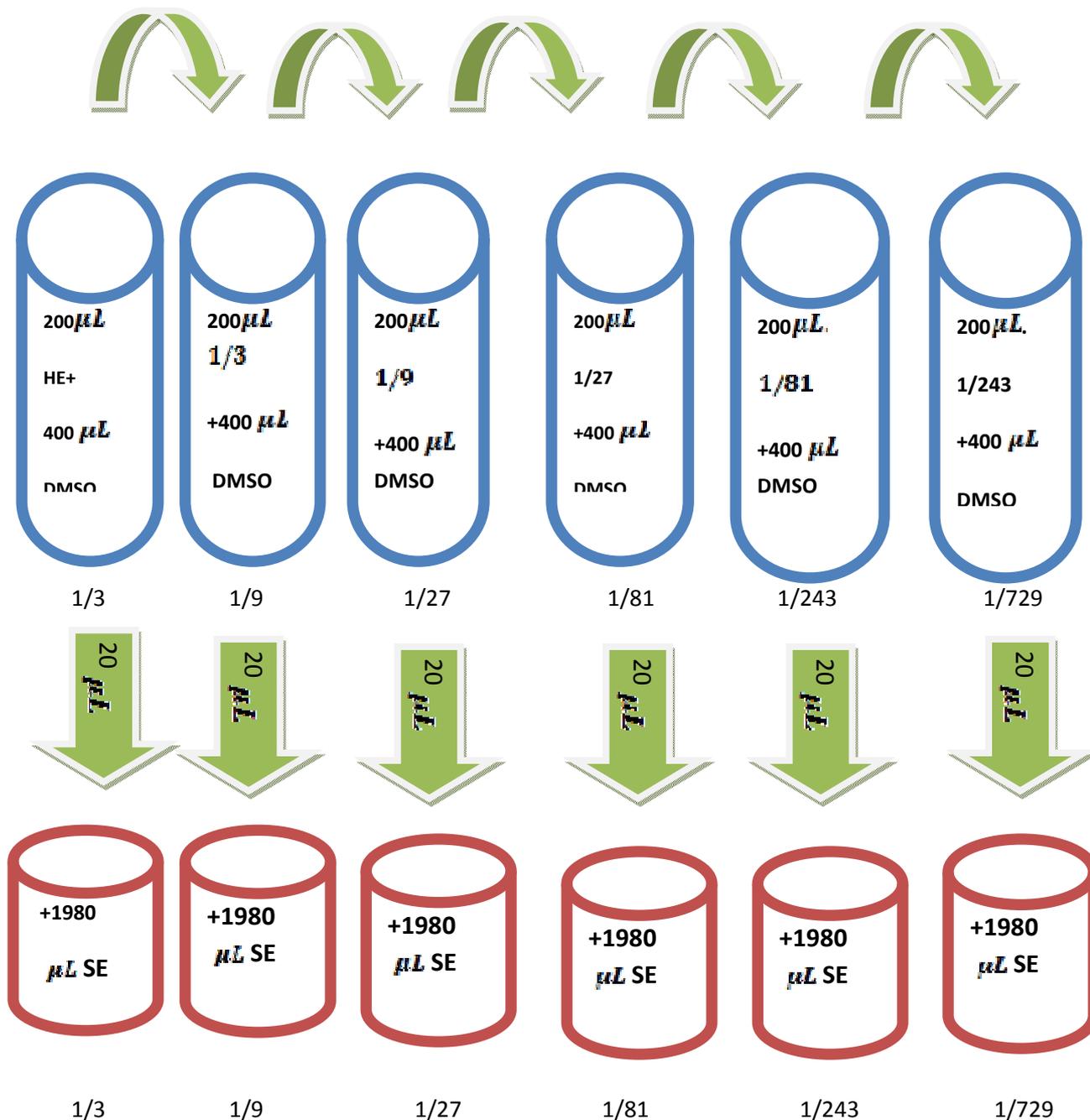
Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, préparé un tube d'hémolyse totale qui contient 125  $\mu\text{l}$  de la suspension érythrocytaire et 2375  $\mu\text{l}$  d'eau distillé, en absence d'extrait.

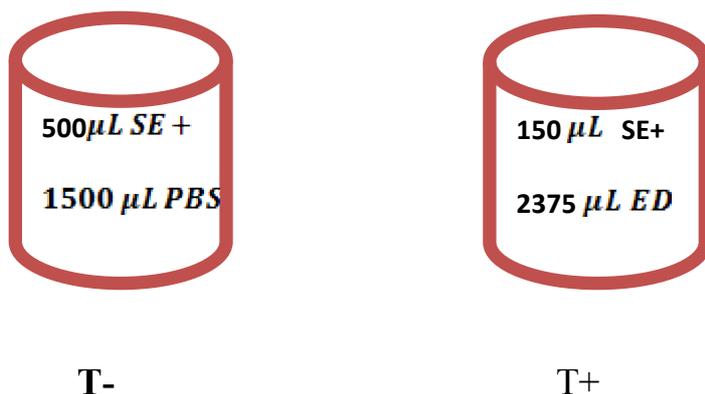
Le taux d'hémolyse des différents extraits est calculé en pourcentage (%) par rapport à l'hémolyse totale, après 60 min d'incubation, selon la formule suivant :

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = \frac{\text{DO (extrait 60 min)} - \text{DO (témoin négatif 60min)}}{\text{DO (hémolyse totale 60min)}} \times 100$$

### Les étapes de l'effet hémolytique :

#### Dilution :



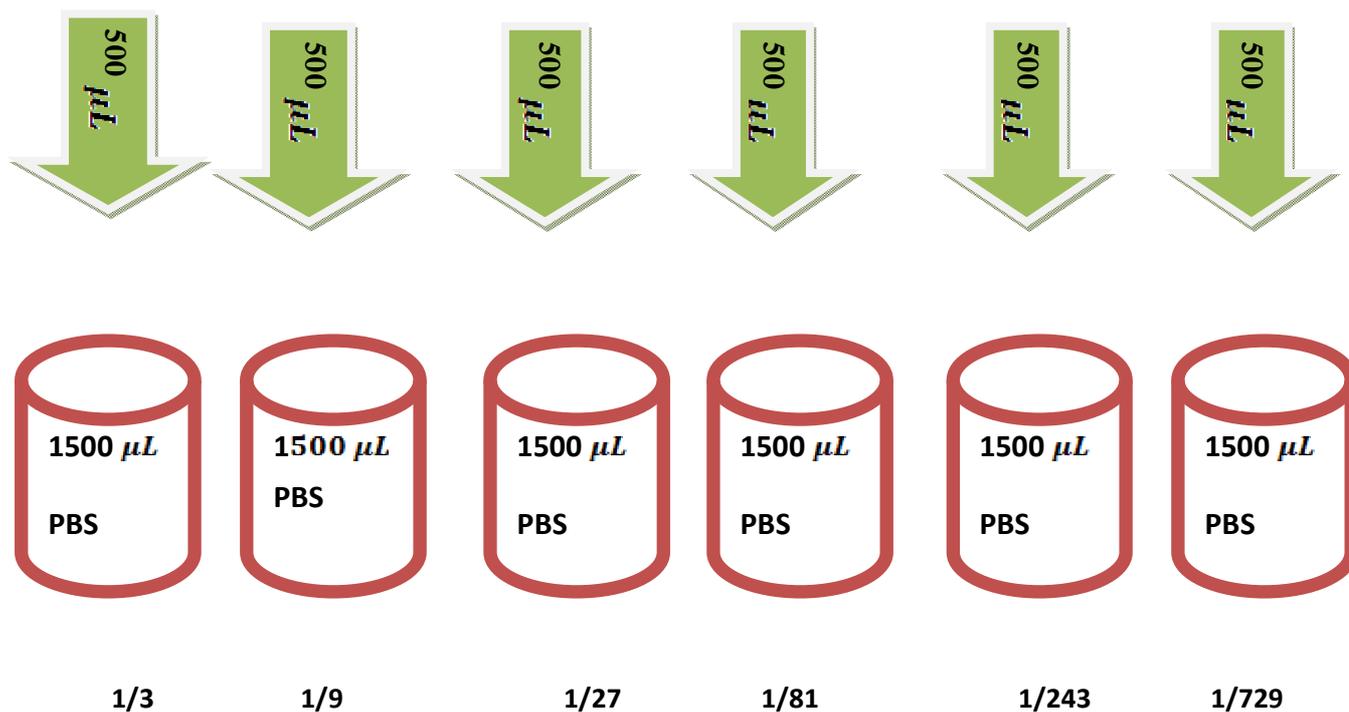


✚ Incubation à 37°C pendant 15 min.



Figure 11 : l'étuve (photo originale).

✚ Après incubation (15min) on prélève 500 $\mu$ L de chaque tube (1/3 ; 1/9 ; 1/27 ; 1/81 ; 1/243 ; 1/729)



- ✚ Puis, on a mélangé les tubes délicatement.
- ✚ Bain glaçons.
- ✚ Puis étape de centrifugation. (pendant 10 min a 2500 tour) .



**Figure 12:** Centrifugeuse (photo originale).

- ✚ Et à la fin, la mesure de densité optique avec longueur d'onde de 548nm.



**Figure 13** :Spectroohotométrie(photo originale).

✚ Et on a répéter ces étapes chaque 15min jusqu'à 60min.

Tout ces études sont réalisés dans le laboratoire d'agronomie de l'université de ABOU BEKR BELKAID, Faculté de science de la nature et de la vie et de la terre et de univers.

**Résultats**  
**Et**  
**discussion**

## Résultats et discussion

### 1. Propriétés organoleptiques des HE extraites

L'examen organoleptique des différentes HE a consisté en des tests olfactif et gustatif complétés par une description de l'aspect et de la couleur de ces huiles (tableau 9).

**Tableau 9** : Caractères organoleptiques des HE étudiées.

Huiles essentielles	Couleur	Aspect	Odeur	Saveur
<i>A. verticillata</i>	Jaune	Liquide (huileuse)	Aromatique	Forte et piquante
<i>T. ciliatus</i>	Jaune foncé	Liquide (huileuse)	Aromatique	Forte et piquante

L'odeur d'une HE est un caractère organoleptique déterminant de sa qualité. L'essai olfactif apporté à l'analyse des huiles esse HE est un élément de très grande valeur puisqu'il permet d'étudier la première caractéristique qu'offre la plante.

Généralement les HE sont des liquides huileux, volatils, caractérisés par une forte odeur, rarement colorés et généralement moins denses que l'eau (Miguel, 2010).

L'arôme de chaque HE est le résultat de la combinaison de tous les constituants, car même les composés minoritaires peuvent jouer un rôle important dans la définition de l'odeur (Sangwan et al., 2001).

Les changements organoleptiques d'un aliment additionné des grandes concentrations d'huiles essentielles, capables d'éliminer la croissance bactérienne, ne sont pas généralement acceptés par le consommateur (Solomakos et al., 2008). Ce constat limite l'utilisation de ces huiles à de faibles concentrations et auxquelles il faudrait associer un autre moyen de conservation comme le froid pour la préservation des denrées alimentaires de l'altération microbienne (Lang et Buchbauer, 2012).

## 2. Rendement d'extraction des HE des plantes étudiées

### 2.1. Rendement en HE d'*A. verticillata*

Dans l'expérience précédente, le rendement d'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne d'*A. verticillata* est de l'ordre de 2.91% (P/P) (**figure 14**) et représente 8.08 fois celui rapporté par **Laouer, (2003)**, (0.36% : P/P) chez la même plante, endémique de la région de Sétif.

D'autres rendements (exprimés en % : P/P) ont été rapportés pour la même plante : 2.51 par **Bnouham et al., (2012)**, dans la région d'Oujda (Maroc), 2 par **El Ouariachi et al., (2011 ; 2015)** à Ihfir (Maroc), 2.8 par **Khajeh et al., (2004)**, 2.7 par **Bendahou, (2007)**, 3.5 par **Chialva et al., (1993)**, 3.5 à 5.2 par **Ashraf et Batty (1975)**, 4.97 par **Kambouche et El-Abed ,(2003)**, 2.1 par **Hashemi et al., (2014)** (Iran) et 2.5 par **Nickavar et al., (2014)** (Iran).

Les travaux de **Bekhechi et al., (2010)** sur la même plante récoltée dans les régions de Tlemcen et d'Ain-Temouchent rapportent des rendements d'extraction en HE qui varient de 2.1 à 5.4%.

Les observations faites, ont servi comme base pour dire que les différences des teneurs en HE d'*A. verticillata* sont étroitement liées aux conditions culturales, tant climatiques ; dispersion géographique, altitude et nature du sol.

Cette interprétation fut avancée par **Bendahou et al., (2007)** qui préconisent que l'étude complète des HE doit passer par la prise en compte des facteurs édaphiques et pour l'obtention d'un meilleur rendement, il est nécessaire de :

- ✚ Choisir un étage bioclimatique semi-aride, tempéré doux.
- ✚ Le sol doit être limoneux-argileux-sableux à texture équilibrée ou argilo-siliceux.
- ✚ Procéder à l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation.

### 2.2. Rendement en huiles essentielles de *T.ciliatus*

L'extraction des HE de nos échantillons de *T.ciliatus* par hydrodistillation a fourni un taux de l'ordre de 3% (P/P) (**figure14**), ce rendement moyen a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le résultat obtenu révèle un bon rendement en HE de l'échantillon récolté de la même station.

Ce rendement en HE est beaucoup plus élevé que celui rapporté par **Amarti et al., (2010)** pour la partie aérienne de *T. ciliatus* (1.2% : P/P) et identique à celui trouvé par le même auteur chez *T. algeriensis* (3% : P/P).

Les rendements obtenus par **Bousmaha et al., (2007)**, à partir de *T. ciliatus* récoltés dans différentes régions de Tlemcen, sont compris entre 3.0 et 5.1% (P/P).

**Giordani et al., (2008)** rapportent que le rendement en HE des différentes espèces de thym d'Algérie y compris l'espèce *T. ciliatus* originaire de Djebel Ansel (Guelma), sont compris entre 2 et 3% (P/P).

Le rendement en HE varie essentiellement selon la nature et l'origine géographique la plante utilisée, ainsi que le matériel et la méthode d'extraction (**Garnero, 1975**).

Selon **Bounatirou et al., (2007)**, la différence de rendement en HE peut être due à deux facteurs : la région et la période de collecte, car ces auteurs ont enregistré, en étudiant les HE de *Thymus capitatus* Hoffm. et Link, une différence de rendement allant de 1.2 % à 5.6% (P/P) et ceci selon la région et le stade de collecte (végétatif, floraison ou post-floraison).

De même **Kholkhal, (2014)**, a constaté qu'il y a des différences de rendement en HE selon le stade de collecte de la plante, et ont enregistré des teneurs de l'ordre de 2% (P/P) avant floraison, 3.40% (P/P) en pleine floraison et de 1.50% à 1.72% (P/P) en post-floraison.

C'est pour cette raison que les connaissances traditionnelles inclues des détails comme la saison durant laquelle des espèces particulières produisent des composés à effets biologiques actifs, quelle parties de la plante renferment ces principes actifs et la région (surtout l'altitude) dans laquelle cette espèce la plus riche en ces composés (**Okunda, 2002 ; Chandra, 2004 ; Jagetia et Baliga, 2005**).

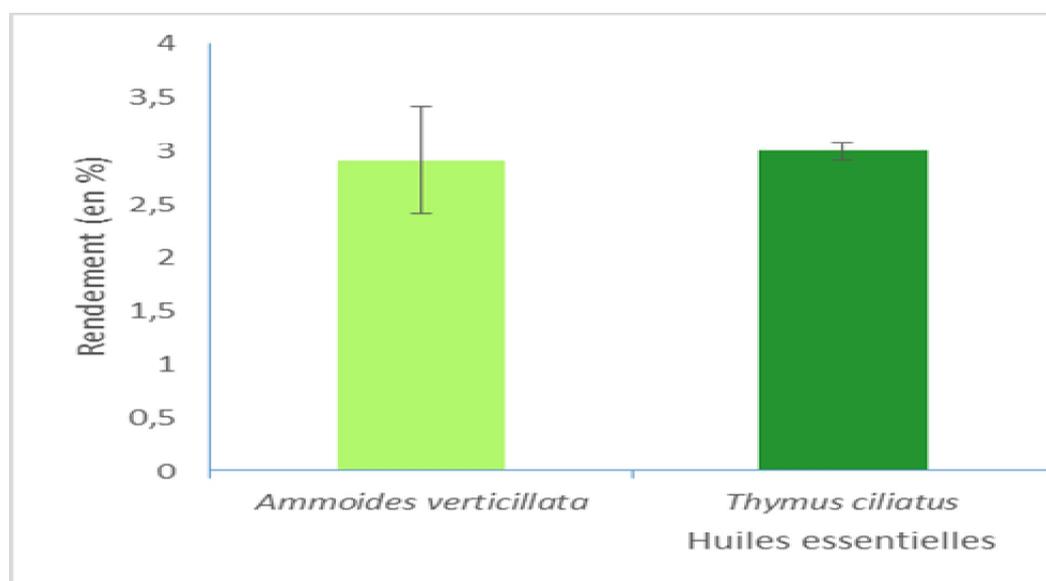
Dans une autre étude sur le même genre, **Elajjouri et al., (2008)** ont constaté que le rendement moyen en huiles essentielles des échantillons de *T. capitatus* et de *T. bleicherianus* était d'environ 2.05 et 1.75% (P/P).

**Haddouchi et al., (2009)** dans une étude sur *Thymus fontanesii* Boiss & Reut ont enregistré un rendement en HE de 2 % (P/P) ; par contre **Dob et al., (2006)** ont obtenu à partir des tiges et des feuilles de la même espèce végétale un rendement plus faible de l'ordre de 0.9% (P/P).

Dans une étude faite sur différents espèces du genre *Thymus* existant en Algérie, **Hazzit et al., (2006)** ont obtenu des rendements en HE de *Thymus munbyanus*, *T. numidicus*, *T. guyonii*, et *T. pallescens*, respectivement de l'ordre de 1.8, 2.4, 1.5 et 3.7% (P/P).

Dans le même cadre, **Houmani et al., (2002)** ont obtenu des rendements allant de 2.2 à 4.0 % (P/P) pour *T. willdenowii* et de 1.4 à 4.2 % (P/P) pour *T. algeriensis*.

D'après une étude faite par **Burbott et Loomis, (1987)**, il apparait qu'une longue journée associée à une forte intensité lumineuse et une température élevée favorise la production d'HE. De leur côté, **El-Keltawi et Croteau (1986a ; 1986b)** ont montré que les régulateurs génétiques sont responsables de la formation d'HE par un effet direct sur le métabolisme des mono-terpènes et sur les niveaux d'activité des enzymes biosynthétiques.



**Figure14:** Rendements des HE d'*A. verticillata* (■), *T. ciliatus* (■).

### 3. Mesure du pouvoir antioxydant des HE extraites

Le stress oxydative a été relié à plusieurs problèmes de santé comme l'athérosclérose, le cancer, la maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, le diabète et l'asthme (**Edris, 2007**). La balance cellulaire des radicaux libres est maintenue par différents antioxydants (**Raut et Karuppayil, 2014**).

L'antioxydant peut agir sous différents mécanismes comme le piégeage des radicaux libres, par la décomposition des radicaux libres et par la chélation des ions métalliques (**Cam, et al., 2009**).

Le pouvoir antioxydant des molécules peut être évalué soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit *in vitro*, en utilisant des tests qui minent le phénomène physiologique. Pour évaluer l'activité antioxydante, *in vitro*, des aliments, extraits naturels et antioxydants commerciales, différentes méthodes ont été développées (**Alam et al., 2013**). Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération formation de radicaux libres. Ces antioxydants peuvent agir selon trois mécanismes majeurs, par transfert d'atome d'hydrogène, par transfert d'électron ou bien par inhibition d'enzymes d'oxydations (**Miguel, 2010**). Ainsi, compte tenu des différents facteurs impliqués, tels que les propriétés physico-chimiques des molécules, il est recommandé d'utiliser plusieurs tests pour confirmer une activité antioxydante (**Prior et al., 2005 ; Miguel, 2010 ; Alam et al., 2013**). C'est pourquoi notre choix s'est porté sur l'utilisation de dix tests chimiques.

Toutes ces activités sont reliées aux composés de l'HE , incluant les composés phénoliques, les flavonoïdes, les terpènes et les sesquiterpènes (**Tomaino et al., 2005, Ferguson et Philpott, 2008; Miguel, 2010 ; Viuda et al., 2011 ; Sanchez et al., 2013 ; Raut et Karuppayil, 2014**).

Selon **Miguel (2010)**, ces composés font preuve de capacité à piéger les radicaux libres et d'inhiber la peroxydation des lipides par l'action de briser la chaîne entre le peroxyde et le radical piégeur. En plus, les phénols piège directement l'espèce d'oxygène réactif (le radical hydroxyle, peroxydite et l'acide hypochlorique).

De son côté, **Amensour et al., (2009)** attribue l'activité antioxydante des HE à ses propriétés redox, ce qui leur permet de jouer un important rôle dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres, réprimer l'oxygène singulier et triplet, et dans la décomposition des peroxydes.

Dans ce cadre, l'*Origanum majorana*, *Tagetes filifolia*, *Bacopamonnierii* et *Curcuma longa* ont prouvé leurs capacités antioxydantes (**Maestri et al., 2006; Tripathi et al., 2007; Maheshwari et al., 2006**). D'autres HE comme ceux de *Salvia cryptantha* and *S. multicaulis*, *Achillea millefolium*, *M. officinalis*, *M. alternifolia*, *Curcuma zedoaria*; *Ocimum* sp. et *Mentha* sp. possèdent aussi un potentiel antioxydant et une capacité à piéger les radicaux

libres (Gulluce et al., 2007; Hussain et al., 2008; Kim et al., 2004; Mau et al., 2003; Politeo et al., 2007; Tepe et al., 2004).

### 3.1. Piégeage du radical DPPH

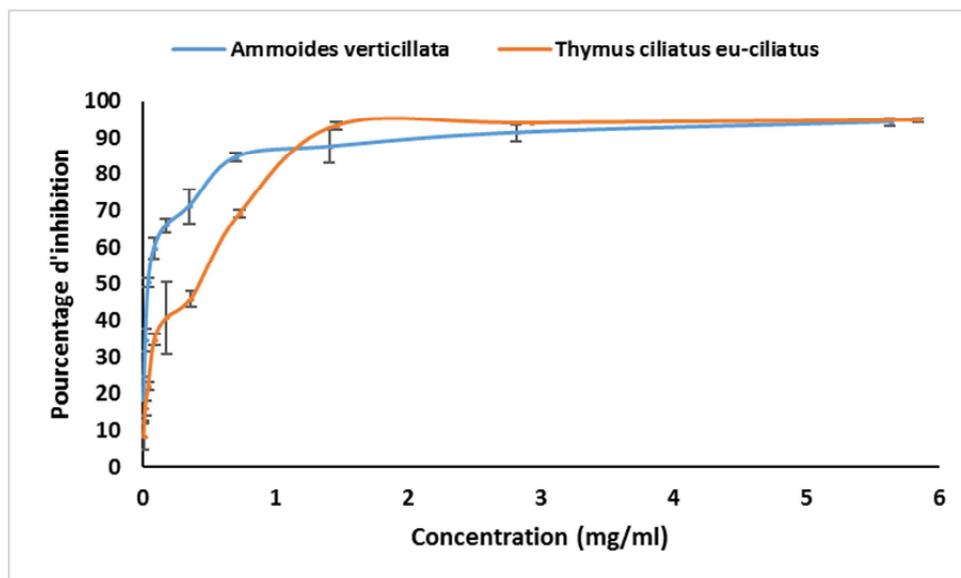
Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH sont représentés dans la **figure15**

Le premier constat extrait de cette figure est que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des HE des plantes étudiées. Le même constat a été fait par plusieurs auteurs (Bounatirou et al., 2007 ; Aazza et al., 2011b ; Priya et al., 2012).

Nous remarquons que HE d'A. verticillata a exercé une excellente activité inhibitrice du radical DPPH en atteignant plus que 80% d'inhibition à une dose de 0.7mg/mL comparée à celle du thym qui a enregistré moins de 70% d'inhibition à une dose similaire pour se faire rattraper par ce dernier aux alentours de 1mg/mL.

Ce constat se confirme par les valeurs d'IC<sub>50</sub> car on a enregistré 0.0422mg/mL pour l'ajowan suivi par celle du thym avec 0.4705 mg/mL. Il faut savoir que l'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car cette valeur exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Dans l'étude réalisée par Huang et al., (2011), l' HE d'ajowan a exercé une efficacité antioxydante remarquable en enregistrant un taux de 70.30% à la concentration de 1µg/mL.



**Figure 15 :** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des différentes HE étudiées.

De leurs côtés, **Ishtiaque et al., (2013)** ont obtenu d'importantes activités inhibitrices sur le radical DPPH en atteignant les 88% d'efficacité.

Dans l'étude réalisée par **Singh et al., (2007)**, l'effet de l'HE d'Ajowan obtenu des marchés de Gorakhpur (Inde) n'a pas été efficace comme dans les autres études en enregistrant seulement 61.2% avec la dose de 5 $\mu$ L d'HE .

Dans une autre étude, **Kedia et al., (2015)** ont enregistré une meilleure efficacité d'Ajowan par une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 0.467  $\mu$ L/mL.

De leurs côtés, **Mazumder et al., (2014)** ont enregistré une inhibition du radical DPPH de l'ordre de 70.67% et de 66.22% respectivement par 200 $\mu$ g/mL l'HE d'Ajowan et de Cardamome seules, par contre une association entre les deux (à raison de 100 $\mu$ g/mL de chaque) a amélioré cette activité en atteignant 73.90% d'inhibition, ce qui conduit à déduire qu'il y a eu une synergie entre les composés des deux HE .

L'activité antioxydante de la fraction acétate d'éthyle des flavonoïdes de la partie aérienne de *T. ciliatus* ssp. *coloratus* a démontré une importante activité en enregistrant une IC<sub>50</sub> de 0.85 mg/mL) (**Kholkhal et al., 2013**).

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 tel que *T. capitatus*, *T. ciliatus* et

*T. bleicherianus* avec  $IC_{50}$  = 0.069mg/mL, 0.074mg/mL et 0.078 mg/mL respectivement, Ces résultats montrent que l'HE de *T. ciliatus* possède une bonne activité antioxydante.

L'étude conduite par **Jamali et al., (2012)** a révélé une faible efficacité de l'huile essentielle de *T. ciliatus* (en enregistrant une  $IC_{50}$  de l'ordre de 206.57 $\mu$ g/mL) comparée aux autres variétés étudiées du thym du Maroc et celle du BHT (avec une  $IC_{50}$  de 4.21 $\mu$ g/mL), ce qu'il faut signaler est que la teneur en thymol et carvacrol de cette plante était nettement inférieure par rapport à celle étudiée dans notre cas et c'est ce qui a causé cette faible activité.

Comparée à une étude faite par **Bounatirou et al., (2007)** sur les HE de *Thymus capitatus* de Tunisie, les HE de *T. ciliatus* ont donné une activité antioxydante nettement supérieure que celle de *T. capitalus* et qui ont enregistré un taux d'efficacité antioxydante de l'ordre de 82.7% pour une concentration de l'ordre de 0.5mg/mL. La même concentration a été faite en comparant l'efficacité antioxydante des HE de notre étude avec celles obtenues par **Tepe et al., (2005)** en étudiant *T. sipyleus* et avec des  $IC_{50}$  de l'ordre de 0.22 mg/mL pour *T. sipyleus* subsp. *Sipyleus* var. *rosulans* et 2.67 mg/mL pour *T. sipyleus* subsp. *Sipyleus*.

De même, dans une étude faite sur les HE de *T. spathulifolius* **Sokmen et al., (2004)** ont trouvé une  $IC_{50}$  de l'ordre de 0.243 mg/mL.

Cette activité peut être attribuée à la présence du thymol et carvacrol car plusieurs auteurs l'ont confirmé (**Ruberto et Baratta, 2000 ; Miguel et al., 2004 ; Bozin et al., 2006 ; Aazza et al., 2011b ; Shahat et al., 2011**), plusieurs d'entre eux ont trouvé une différence dans l'efficacité entre ces deux mono-terpènes phénoliques (**Ruberto et Baratta, 2000 ; Mastelić et al., 2008**) alors que d'autres non (**Aazza et al., 2011b**).

A travers l'étude conduite par **Tsai et al., (2011)**, l'HE de *T. vulgaris* a démontré une bonne efficacité à piéger le radicale DPPH en enregistrant une  $IC_{50}$  de 0.10 $\mu$ g/mL, ils ajoutent que les composés majoritaires de cette HE étaient le  $p$ -cymène et le thymol, ce qui a généré cette activité antioxydante car une proportion élevée en thymol et carvacrol fait preuve d'une bonne activité antioxydante.

### 3.2. Piégeage du radical ABTS

Selon **Re et al., (1999)**, la méthode de piégeage du radical ABTS est une excellente méthode pour déterminer l'activité antioxydante pour une large diversité des substances,

comme antioxydants donneurs d'hydrogène ou piègeurs de radicaux en phase aqueuse et d'antioxydant briseur de chaînes ou bien comme piègeur de radicaux pyroxylé.

Les valeurs des densités optiques enregistrées au cours de l'expérimentation ont permis de calculer les pourcentages d'inhibition du radical ABTS. Ces pourcentages augmentent de façon proportionnelle en fonction des concentrations des HE. Ces résultats ont permis de tracer les différentes courbes de la **figure 16**.

A travers cette figure nous remarquons que les huiles essentielles d'Ajowan et du thym ont exercé une forte activité inhibitrice du radical ABTS en atteignant les 90% avec une dose inférieure à 0.01mg/mL.

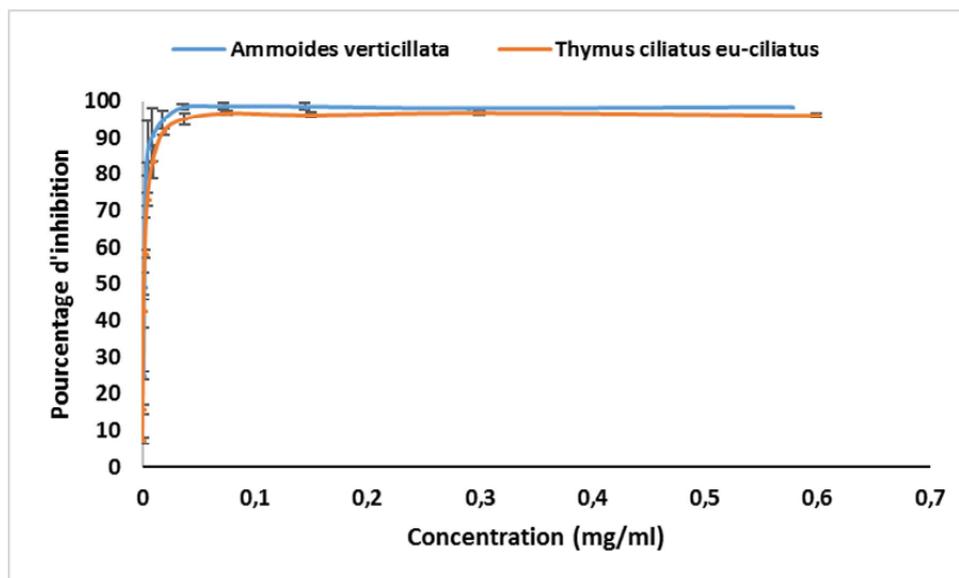
Les valeurs des  $IC_{50}$  des différentes HE nous donnent une idée sur leurs efficacités car l'Ajowan a donné une  $IC_{50}$  de l'ordre de 0.0013 mg/mL suivi par celle du thym avec 0.0017 mg/mL.

Donc le pouvoir antioxydant des HE d'*A. verticillata*, de *T. ciliatus* et de *Curcuma longa* par le test ABTS confirme l'efficacité antioxydante testé par le DPPH.

Dans la littérature peu d'article ont testé l'efficacité des huiles essentielles de ces plantes par le test ABTS.

l'efficacité antioxydante des HE étudiées dans notre cas est nettement meilleure que celle enregistré par **Amarti et al., (2011)** en étudiant l'HE de *Thymus zygis* du Maroc avec 0.07597 mg/mL.

Comparés aux résultats présentés par **Tel et al., (2010)** sur *Salvia chionantha* (lamiaceae), l'activité antioxydante des huile essentielles, des plantes étudiées au cours de notre expérimentation, a démontré une efficacité nettement supérieure.



**Figure16:** Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des différentes concentrations des HE étudiées.

Nos résultats ont donné une efficacité antioxydante évaluée par la méthode ABTS nettement meilleurs à ceux enregistré par **Bakchiche et al., (2013)** en étudiant les HE d'*Artemisia campestris* ( $IC_{50} = 1.013$  mg/mL) et *Juniperus phoenicia* ( $IC_{50} = 2.020$  mg/mL) par contre **Öztürk, (2012)**, en étudiant les huiles essentielles de *Satureja thymbra* a enregistré une activité antioxydante sensiblement similaire à nos huiles essentielles avec une  $IC_{50}$  de 0.0093 mg/mL.

**Undeger et al., (2009)** et **Damasceno et al., (2011)** ont attribué l'efficacité antioxydante des étudiées par le test d'ABTS à leur contenance en composés à structure phénolique (thymol et carvacrol).

En le testant par ABTS, l'HE de *Thymus capitatus* riche en carvacrol étudié par **El Abed et al., (2014)** ont enregistré une excellente efficacité par rapport au BHT (en enregistrant des  $IC_{50}$  respectif de 0.463  $\mu$ g/mL, 3.204  $\mu$ g/mL).

D'après d'autres travaux, le thymol est considéré comme le composé antioxydant le plus efficace de tous les mono et sesquiterpènes (**Amensour et al., 2009 ; Viuda et al., 2011**). Même comparé au carvacrol le thymol possède l'activité antioxydante la plus élevée (**Viuda et al., 2010**).

### 3.3. Piégeage du radical hydroxyle

Par des dilutions en cascade des différentes HE à tester, une gamme de concentrations a été réalisée. Les différentes absorbances enregistrés nous ont servi de base pour calculer les pourcentages d'inhibition du radical hydroxyle qui ont permis de tracer des courbes ayant des allures logarithmiques (**Figure 17**).

Les résultats représentés dans cette figure, nous donne une claire idée sur l'efficacité inhibitrice du radical hydroxyle par l'HE de *T. ciliatus* en enregistrant une  $IC_{50}$  de l'ordre de 0.00221mg/mL, suivi par celle d'*A. verticillata* avec une  $IC_{50}$  de l'ordre de 0.0355mg/mL.

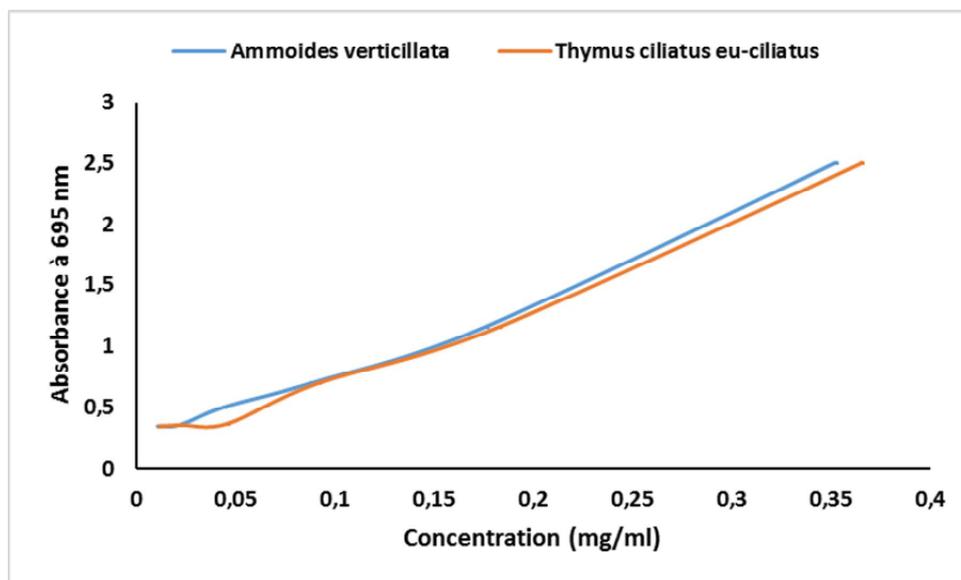
L'habilité des HE à réduire l'OH semble être directement liée à la prévention de la propagation du procès de peroxydation des lipides et semble être un bon piègeur des espèces d'oxygène actif, ce qui conduit à réduire le taux de réactions d'oxydations (**Sahreen et al., 2010**).

**Senthilkumar et Venkatesalu, (2013)**, ont obtenu un bon effet inhibiteur du radical hydroxyl en utilisant l'HE de *Feronia limonia* qui s'est traduit par une  $IC_{50}$  de 25.05  $\mu$ g/mL même comparée à celle l'acide ascorbique comme standards qui a enregistré une  $IC_{50}$  de 28.65  $\mu$ g/mL.

Les HE de *T. caespititius* de différentes stations qui ont fait l'objet d'étude de **Dandlen et al.,(2010)** leur ont permis d'obtenir une efficacité inférieure à celle enregistré pour *T. ciliatus* utilisé dans notre étude car ils ont obtenus des  $IC_{50}$  comprises entre 0.417 mg/mL, 0.508 mg/mL. Les composés majoritaires des espèces de thym étudiées dans cette étude étaient Borneol, camphor,  $\alpha$ -terpineol, 1,8-cineole, camphene,  $\alpha$ -pinene and *p*-cymene avec différentes concentrations.

La présence de composés phénoliques comme thymol et carvacrol n'est pas déterminante pour piéger le radical hydroxyle, ce qui signifie que leurs présence comme composés majoritaire n'est pas synonyme d'efficacité inhibitrice. Par contre celle de borneol, camphor,  $\alpha$ -terpineol, 1,8-cineole, camphene,  $\alpha$ -pinene et *p*-cymene peut conduire à une forte comme elle peut conduire à une faible activité et ça dépend de l'espèce et du lieu de collecte de la plante (**Dandlen et al., 2010**).

Par contre **Singh et al., (2010b)**, ont enregistré des  $IC_{50}$  élevé de l'ordre de 126.15 et 109.75 $\mu$ g/mL respectivement pour les HE des jeunes et mature feuilles d'*Artemisia scoparia* traduisant ainsi leurs faibles activité à piéger l' $OH\bullet$ .



**Figure 17** : Pourcentages de piégeage du radical hydroxyle en fonction des différentes concentrations des HE étudiées.

De même le constat fait par **Thirugnanasampandan et al., (2012)** sur l'efficacité de l'HE de *Toddalia asiatica* (L.) riche en  $\beta$ -phellandrene a révélé une inefficacité vis-à-vis du radical  $OH\bullet$  en enregistrant une  $IC_{50}$  de 281.30 $\mu$ g/mL comparé à celle du BHT avec une  $IC_{50}$  de 30.14 $\mu$ g/mL.

## L'activité hémolytique

Les tests d'activité hémolytique ont été réalisés sur des HE de la partie aérienne (feuilles et tige) des plantes *A. verticillata* et *T. ciliatus*.

D'après, les résultats obtenus des HE de *T. ciliatus* et d'*A. verticillata*, nous avons constaté que l'absorbance est directement proportionnelle à la concentration d'HE.

Les figures 18 et 19 présentent l'évolution des taux d'hémolyse, par absorbance, allant de 0 min jusqu'à 60 min, dans un milieu tampon PBS (pH 7,4±0,02) contenant une suspension érythrocytaire, incubée à 37°C, en présence des différentes concentrations en HE (0,000135 µL/mL ; 0,00041 µL/mL ; 0,0012 µL/mL ; 0,0037 µL/mL ; 0,0111 µL/mL) de *T. ciliatus* et *A. verticillata*.

D'après la figure 18, la concentration de 0,000135 µL/mL d'HE de *T. ciliatus* a enregistré le plus faible taux d'hémolyse même après 60min de contact frôlant les 4% suivi par le taux de 0,00041 µL/mL en atteignant 4,6% à 30min de contact et dépassant 5,9% après 60min de contact. Par contre les autres concentrations ont toutes dépassé 5% d'hémolyse. De même pour les concentrations de 0,0012 et 0,0037 µL/mL qui dépassent les 5% dès le premier contact et dépassent même 10% après 60min de contact.

La concentration de 0,011µL/mL a donné une importante hémolyse en frôlant 35% après 60 min de contact.

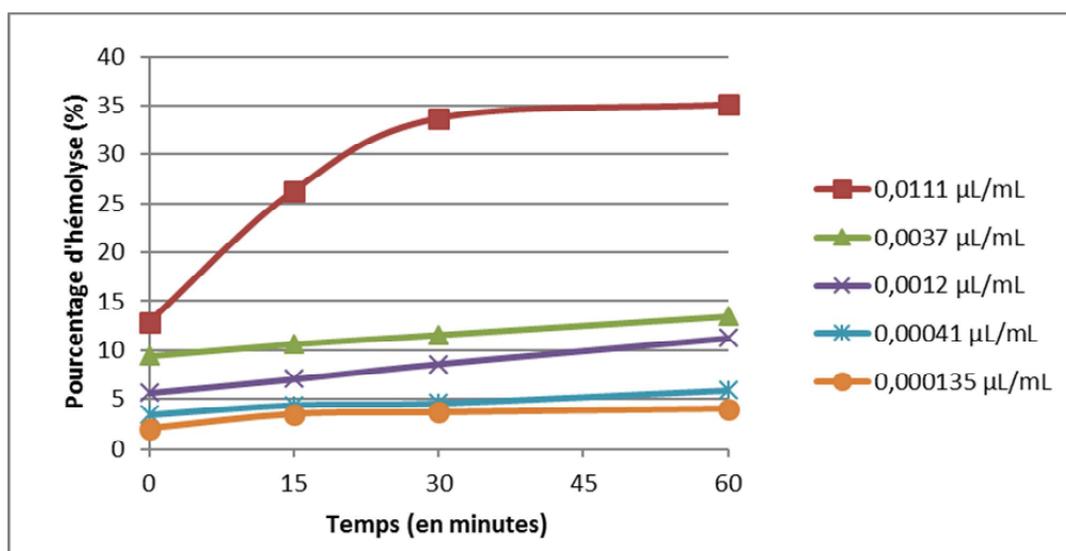
La figure19, nous donne une idée claire sur l'effet hémolytique qu'exerce l'HE d'*A. verticillata*, cet effet hémolytique qui s'est traduit par des taux dépassant les 12% même à la plus faible concentration d'HE (0,000135µL/mL) et au début de contact (0 min).

Il faut souligner aussi que la concentration de 0,0111µL/mL a donné un taux d'hémolyse de 60% au début de contact (0 min) et a atteint même 90% après 60 min de contact.

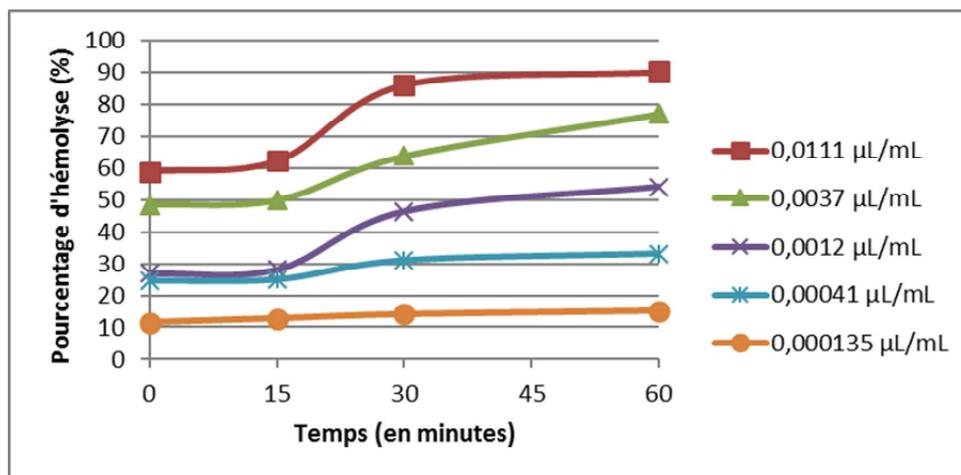
Les tests de la toxicité permettent d'évaluer les risques liés à l'exposition à une substance chimique particulière, et l'obtention des informations sur les caractéristiques de cette substance (Diezi, 1992).

De ce fait, l'évaluation de la toxicité s'appuie sur des études qualitatives et quantitatives. En fonction de la durée de l'étude et la dose administrée (Agbor et al., 2005).

Evaluer les activités biologiques des extraits naturels, nécessite une étude de l'activité hémolytique, même si la plante possède une activité antioxydante, son utilisation dans des préparations alimentaires et pharmaceutiques sera impossible vu la présence de ces effets hémolytiques qui confirment la présence des saponines (Sparg et al., 2004).



**Figure 18:** L'évolution du taux d'hémolyse des tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d'HE de *T. ciliatus*.



**Figure 19:** L'évolution de taux d'hémolyse des tubes contenant une suspension érythrocytaire en présence des différentes concentrations d'HE d'*A. verticillata*.

Les globules rouges ont été choisis comme modèle en biologie cellulaire et moléculaire pour l'étude de la cytotoxicité *in vitro* à cause de leurs facilités d'isolement et leurs simplicités. Ils sont un outil précieux pour l'étude des transports ioniques transmembranaire via la membrane érythrocytaire (Wajeman et al., 1992). Ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs et la stabilité de leurs membranes est un bon indicateur de l'effet de diverses études réalisées par divers composés, *in vitro*, pour le dépistage de la cytotoxicité (Arbos et al., 2008; Çimen, 2008).

A travers le travail de Qiu et al., (2011), les concentrations subinhibitrices de *Perilla frutescens* et d'eugénol ont démontré une diminution l'activité hémolytique causé par le staphylocoque doré.

Un autre travail a étudié le potentiel de l'Eugénol pour être un inhibiteur d'hémolyse provoqué par *Aeromonas hydrophila* dans des érythrocytes de poissons (Cunha et al., 2010).

D'autre part, les composés d'huile essentielle comme le thymol et carvacrol, pouvaient réduire l'activité d'hémolyse due à *Listeria monocytogenes* (Upahyay et al., 2012).

L'activité hémolytique de l'extrait des graines de *Cydonia oblonga* Miller peut être expliquée par la présence des saponines dans la suspension d'érythrocytaire, puisque ces composés sont également extraits par le méthanol et identifiés par leur activité hémolytique et propriétés écumantes (Vincken et al., 2007).

En étudiant les extraits aqueux et méthanoliques de plusieurs plantes, **Rengasamy et al., (2013)** et **Zubair et al. (2013)** ont constaté un faible effet hémolytique contre les érythrocytes humains.

D'après **Oliveira et al. (1999)**, l'étude expérimentale sur des rats de Wistar ont prouvé que l'injection de l'extrait brut de *Lonomia obliqua* a causé l'hémolyse intravasculaire avec une hémoglobinurie.

En effet l'HE d'*Origanum vulgare* possède une activité inhibitrice de l'ATPase (**Gill, 2006**) qui induit la dissipation de la force proton-motrice, touchant le fonctionnement de la cellule (**Sokolova, 2005 ; Touati, 2013 ; Ultee, 2002 ; Wendakoon, 1995**).

Par contre, l'extrait d'*Eudistoma vannamei* n'a montré aucun effet lytique sur des érythrocytes de souris, suggérant que le mécanisme de la cytotoxicité ne soit pas un résultat des dommages de membrane. (**Van et al., 1992 ; Einat et al., 1995 ; Schupp et al., 1999 ; Rashid et al., 2001 ; Makarieva et al., 2001**).

En 2013, **Moussaoui et Harkati** ont enregistré un taux d'hémolyse d'ordre de 5,4% , après 45min d'incubation de 0,2mg/ml d'extrait brut aqueux de *Marrubium vulgare*, récolté de la région de Mansourah wilaya de Tlemcen, par rapport à l'hémolyse totale.

Dans les mêmes conditions **Elalaoui (2014)** a enregistré un taux d'hémolyse de l'ordre de 88% après l'incubation d'érythrocytes isolés dans le PBS (pH= 7,4) en présence de 1ml/ml d'extrait brut hydroalcoolique des grains de nigelle (*Nigilla sativa*).

Les racines de *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* étudiées par **Chaouche et al., (2015)** n'ont pas exercé un effet hémolytique ce qui en témoigne de leur non toxicité

**conclusion**

## Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales resteront toujours une source fiable de principes actifs d'intérêt thérapeutique. Face à la phobie des molécules de synthèse chimique, leur utilisation est en progression constante. La problématique soulevée dans cette thèse s'inscrit dans ce souci d'exploration et de criblage de nouvelles biomolécules contenues dans des plantes autochtones qui poussent à l'état sauvage dans nos contrées et faisant partie de la pharmacopée traditionnelle de nos populations. C'est le cas d'*A. verticillata* et *T. ciliatus*.

Dans un premier volet de ce travail, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles et à la détermination du rendement de ces deux plantes.

Nous avons noté une presque similitude de rendements en HE entre les deux plantes étudiées.

Dans un deuxième volet, nous avons mis en évidence et évalué les propriétés biologiques des HE extraites.

La première série de propriétés biologiques des HE explorée a été l'évaluation de leur activité anti-radicalaire et de leur pouvoir réducteur. Plusieurs tests réalisés (radical hydroxyle, DPPH et ATBS) laissent apparaître des différences entre les HE des deux espèces végétales.

En effet, nous avons noté une efficacité remarquable de l'HE d'*A. verticillata* vis-à-vis des radicaux DPPH avec une valeur de ( $IC_{50}=0,0422\text{mg/mL}$ ), et ( $IC_{50}=0,0013\text{mg/mL}$ ) pour ABTS. En revanche, dans les tests de piégeage du radical hydroxyle, l'efficacité de l'huile essentielle de *T. ciliatus* a été la plus remarquable.

La deuxième série de propriétés biologiques des huiles essentielles réalisée a été celle sur les érythrocytes

L'activité hémolytique des HE a démontré un grand effet sur les érythrocytes de l'huile essentielle d'*A. verticillata* avec un taux d'hémolyse de (35%), alors que l'HE de *T. ciliatus* s'est montré plus préservateur vis-à-vis des érythrocytes.

L'ensemble de ces propriétés biologiques démontrées expérimentalement confèrent aux HE des espèces végétales étudiées un statut de médicament naturel dénué de toute suspicion et des bénéfices santé qu'elles peuvent nous procurer.

En perspective, il serait fort intéressant de compléter cette étude in vitro par une expérience In vivo, à même capable de vérifier les propriétés biologiques de ces huiles essentielles et de s'en assurer de l'innocuité totale chez un modèle animal de choix. Il serait, également, très instructif d'explorer l'effet isolé et synergique des différents constituants des HE de ces espèces.

# **Références**

# **Bibliographiques**

-A-

**Aazza S., Lyoussi B., Miguel M.G.** (2011a). Antioxidant activity of some Moroccan hydrosols. *J. Med. Plants Res.*, (5): 6688-6696.

**Aazza S., Lyoussi B., Miguel M.G.** (2011b). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds. *Molecules*, 16: 7672-7690.

**Abdelouahid D. E., Bekhechi C.** (2002). Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* (Nûnkha). *Biologie et Santé*, 4: 91 - 100.

**Abdoul- Jabbar, R. A., A M.** (1989). Antimicrobiol activity of essential oil of carum rose burghianum (Bal-Ajowan). Univ. Of Agric .Faisalabad, 405-402.

**Adorjan B., Buchbauer G.** (2010). Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour Fragr. J.*, 25: 407-426.

**Agbor G, Ngogang J.** (2005). Toxicity of herbal préparation. *Cameroon Journal of ethnobotany*, (1): 22-28.

**Aguilar\_Martinez.** (2007).H2-Erythrocytes\_MB7 : Hémathologie H2\_Faculté de médecine Montelier\_Nîmes.

**Alais D,** (2003). The "flash-lag" effect occurs in audition and cross-modally. *Current Biology*, 13, 59-63.

**Alcarazl.C.** (1991). Contribution à l'étude des groupements à *Quercus ilex* sur terra rossa des Monts de Tessala (Ouest Algérien). *Ecologie Mediterranea*. Tome IX. Fasc. 2,1- 180.

**Allingern.L** (1976). Chimie organique» Ed.Univ, MCGRAW.HILL. *Tome III. Paris*.

**Amarti F. Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. & Chaouch A.** (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus Algeriensis* boiss. Reut. Et *Thymus ciliatus* (desf) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 14(1): 141-148.

**Amarti F., El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., Guedira A., Rahouti M., Chaouch A.** (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9: 149-157

**Amensour M., Sendra E., Jamal A., Bouhdid S., Pérez-Alvarez J.A., & Fernández- López, J.** (2009). Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Natural Products Communications*, 4(6): 819-824.

**Arbos KA, Claro LM, Borges L, Santos CAM, Weffort-Santos AM.** (2008). Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research*, 28(7): 457-463.

**Ashraf M. & Bhatti M.K.** (1975). Studies on the essential oils of Pakistani species of the family umbelliferae. Part I. *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague (ajowan) seed oil. *Pakistan J. Sci. md. Res.*, 18: 232-235.

**Association Française de normalisation (AFNOR).** (1992). Recueil des normes françaises Huiles essentielles.

**Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H. & Belkacem N.** (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(10): 2041-2050.

#### -B-

**Bajpai K., BEAK K., JUNG S.** (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils. *A review Food research international* 45:722-734.

**Bakchiche B., Gherib A., Aazza S., Gago C., Miguel M.G.** (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46: 85- 96.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.** (2008). Biological effects of the essential oils. *Food and chemical toxicology* 46: 446-475.

**Bakchiche B., Gherib A., Aazza S., Gago C., Miguel M.G.** (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46: 85- 96.

**Baser K.H., Tümen G., Tabanca N. , Demirci F.** (2001). Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Satureja wiedemanniana* (Lallem.). *Velen. Z. Naturforsch*, 56c: 731-738.

**Benjamin B., Marc Z.** (2006) Hémolyse et son exploration : Hématologie biologique (Pr Marc Zandecki). Faculté de Médecine – CHU 49000 Angers France .

**Benjlali B, Hammouni M., M'Hamedi A. Richard H.** (1987). Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties: principal component analysis. *Sci. Aliments*, 7

**Bekhechi C.** (2002). Analyse de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* (Nûnkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. *Mémoire de Magister*, option Biologie Moléculaire et Cellulaire, université Abou Bah Belkaïd.

**Bekhechi C., Boti J. B., Atik Bekkara F., Abdelouahid D. E., Casanova J. & Tomi F.** (2010). Isothymol in Ajowan Essential Oil. *Natural Product Communications*, 5(7): 1107-1110.

**Belouad A.** (1998). Plantes Médicinales d'Algérie, Office des Publications Universitaires Algiers, 206-207

**Benavente-Garcia O., Castillo J. & Lorente J.** (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *oleaeuropaea* L leaves, *Food Chem.*, 68: 457-62.

**Bendahou M.** (2007). Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de l'Ouest Algérien. *Thèse de Doctorat d'Etat*, option biochimie, université Abou Bah Belkaïd, Tlemcen.

**Bendahou M., Benyoucef M., Benkada D., Soussa Elisa M.B.D., Galvao E.L., Marques M.M.O., Muselli A., Desjobert J.M., Bernardini A.F. & Costa J.** (2007).

Influence of the *processes extraction on essential oil of Origanum glandulosum*. *J. of Applied Sciences*, 8: 1152-1157.

**Berger, J.O.** and **Sun, D.** (2006). (Objective priors for a bivariate normal model). Technical report, ISDS, Duke University.

**Bhargava, HaKsar (1961)** in **Mehta R. L., Zayas J. F.** (1995). Antioxidative effect of Ajowan in a model system. *JAOCS*, 72:1215 - 1218.

**Blois, M.S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181:1199- 1200.

**Bnouham M., Benalla W., Asehrou A. & Berrabah M.** (2012). Antibacterial activity of essential oil from *Ptychotis verticillata*. *Spatula*, 2(1): 69-73.

**Boulos L.** (1983). Medicinal plants of North Africa. *Reference Publication: Algonac, MI*, 109-175.

**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, antioxydant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. *Food chemistry*, 105: 146-155.

**Bourel C.** (1993). Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits des plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de l'institut National Polytechnique de toulouse. Toulouse, France

**Bousmaha-Marroki L., Atik B.F., Tomi F., Casanova J.** (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Ssp. eu-ciliatus Maire from Algeria. *Journal of Essential oil Researh*, 19(5): 490-493.

**Boutedjiret C.** (1990). L'huile essentielle d'Artémisia herba-Alba Asso d'Algérie. Approche des conditions optimales de son extraction par entraînement à la vapeur d'eau. Contribution à son étude analytique. Mémoire de magister en génie chimique, Ecole national polytechnique d'Alger.

**Bown D.** (1995). Encyclopedia of herbs and their uses. Dorling Kindersley Publishing, The Herb Society of America

**Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G.** (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 1822-1828.

**Braham** (2012). jmili nejia le globule rouge : faculte de pharmacie de monastir *Support Pédagogique 3eme Année (Nouveau Coursus)*

**Bratta M.T., Dorman H.J.D, Deans S.Y, Figueredo A,C., B Arroso J.g., Ruberto G.**(1998): Antibacterial and antioxidant proprieties of some commercial essential oils. *Flavour and fragrance journal*, 13:235-244.5

**Bruneton, J.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> édition. Paris: Editions médicales internationales, éditions Toc & Doc Lavoisier, 1120p. 1999. Tec et doc. Paris

**Bruneton J.** (1987) : Elément de phytochimie et de pharmacognosie. *Ed. Lavoisier.*

*Tech. Doc. Paris.*

**Brun Blanquet.J.** (1975). La flore du bassin méditerranéen. Essai de systématique. Centre National de Recherche Scientifique. Paris.

**Bruneton, J.** (1999. ) Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> édition. Paris: Editions médicales internationales, éditions Toc & Doc Lavoisier, 1120p.

**Burbott A. & Loomis P.** (1987). Development, oil storage of dehiscence and peltate trichomes in *Thymus vulgaris*. *Nord J. Bot.*, 3: 245-504.

**Burt SA, van der Zee R, Koets AP.** (2007) Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157: H7. *App Env Mic* 73(14): 4484–90

**Burt S.** (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-25

**Caillet s.et La croix M., (2009).** Les Huiles essentielles : Leur propriétés antimicrobienne et leur applications potentielles en alimentaires.

**Çam M., His il Y., & Durmaz G. (2009).** Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112(3): 721-726.

**Cantino PD, Harley RM, Wagstaff SJ (1992).** Genera of Labiatae: status and classification. In: Harley RM, Reynolds T (eds) *Advances in labiate science*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 511–22

**Cao G.H., Alessio H.M. et Cutler R.G. (1993).** *Oxygen - radical absorbency capacity assay for antioxydants, Free Radie. Biol. Med., 14 : 303-311*

**Carrée P. (1953).** Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome II. *Ed. Ballière J. B. et fils.* 432

**Castro L., Freeman B.A. (2001).** Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*, 170: 161-165.

**Celikel N et Kavas G., (2008):** *Antibacterial proprieties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. Czech J. food sci., 26:174-181.*

**Chalchat J.K., Carry L.P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. & Chopineau J. (1997).** Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res., 9: 67-75.*

**Chandra S. (2004).** Effect of altitude on energy exchange characteristics of some alpine medicinal crops from central Himalayas. *Journal of Agronomy and crop science*, 190 (1):13-20.

**Chaouche T. M., Farah Haddouchi, Fouzia Atik-Bekara, Riadh Ksouri, Rachid Azzi, Zahia Boucherit, Choukri Tefiani, Romain Larbat (2015):** Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MSn characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Industrial Crops and Products*, 64: 182–187.

**Chialva F., Monguzzi F., Manitto P. , Akgul A.** (1993). Essential oil constituents of *Trachyspermum copticum* (L.) fruits. *Journal of Essential Oil Research*, 5: 105-106.

**Cimanga K., Kambu K., Tona L., Apers S., De Bruyne T., Hermans N., Totte J., Pieters L. & Vlietinck A.J.** (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J Ethnopharmacol.*, 79(2): 213-320.

**Cosentino S, Tuberoso CIG, Pisano B.** (1999) *In vitro* anti-microbial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol* 29: 130–5

**Cowan, M. M.** (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4) :564-582,

**Cunha, M.A., Zeppenfeld, C.C., Garcia, L.O., Loro, V.L., Fonseca, M.B., Emanuelli, T., Veeck, A.P.L., Copatti, C.E., Baldisserotto, B.,** (2010). Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cor-tisol response and sensory analysis of fillet. *Ciênc. Rural*, 40 :2107–2114.

**-D-**

**Damasceno E.I.T., Silva J.K.R., Andrade E.H.A., Sousa P.J.C. & Maia J.G.S.** (2011). Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis*. *Rev. Bras. Farmacog. Braz. J. Pharmacog.*, 21: 78-85.

**Damerji S.** (2012) : La faune malacologique sur différentes plantes médicinales dans la région de Tlemcen (Algérie nord-occidentale) *Afrique SCIENCE* 08(1) :79 - 87

**Dandlen A.S., Lima A.S., Mendes M.D., Miguel M.G., Faleiro M.L., Sousa M.J., Pedro L.G., Barroso J.G. & Figueiredo A.C.,** (2010). Antioxidant activity of six Portuguese thyme species essential oils. *Flavour and fragrance journal*, 25: 150-155.

**De Vincenzi M, Stammati A, De Vincenzi A, Silano M** (2004) Constituents of aromatic plants : carvacrol. *Fitoterapia* 75: 801–4

**Didry N, Dubreuil L, Pinkas M.** (1994). Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and on oral bacteria. *Pharm Acta Helv* . 69(1): 25–8

**Diezi J.,** (1992). Principe de base et répercussion clinique. In : pharmacologie : des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Schorderet M. (Eds) Erisson – Roche. Paris, Slatkine , Genève (2<sup>ème</sup> Ed).pp33-35.

**Didry N, Dubreuil L, Pinkas M** (1994) Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and on oral bacteria. *Pharm Acta Helv* 69(1): 25–8

**Djenane D., Aïder M., Yangüela J., Idir L., Gómez D. & Roncalés P.** (2012). Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Science*, 92: 667-674

**Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C.** (2006) Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus fontanesii*. *Pharm Biol*; 44(8): 607-12.

**Duke JA.** CRC Handbook of medicinal herbs. Boca Raton: CRC Press 1989; pp. 483-4.

**Drouin G.,** (1997) Résumé d'un article publié dans la revue Interface, novembre décembre.

-E-

**Edris A.E.** (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother. Res.*, **21**: 308-323.

**Einat, M., Lishner, M., Amiel, A., Nagler, A., Yarkorli, S., Rudi, A., Kashman, Y., Markel, D., Fabian, I.,** (1995). Eilatin: a novel marine alkaloid inhibits in vitro proliferation of progenitor cells in chronic myeloid leukemia patients. *Exp. Hematol.* 23, 1439–1444.

**El Abed N., Habibi K., Kaabi B., Mejri M., Smaali M.I., Marzouki M.N., Chabbouh M., & Ben Hadj Ahmed S.** (2014). Chemical Composition, Antioxidant

and Antimicrobial Activities of *Thymus capitata* Essential Oil with Its Preservative Effect against *Listeria monocytogenes* Inoculated in minced Beef Meat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-11.

**Elalaoui.**, (2014) : contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation del'effet hémolytique d'extrait brut hydroalcoolique des grains de *Nigella sativa* L. Université de Tlemcen.

**El Ajjouri M, Satrani B, Ghanmi M.** (2008). Activité anti-fongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link. contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. *Biotechnol Agron Soc Environ* 12(4): 345–51

**El-Keltawi N.E. & Croteau R.** (1986a). Influence of ethephon and daminozide on growth and essential oil content of peppermint and sage. *Phytochem.*, 25: 1285-1288.

**El-Keltawi N.E. & Croteau R.** (1986b). Influence of phosphon D and cycocel on growth and essential oil content of peppermint. *Phytochem.*, 25: 1603-1606.

**El Ouariachi E., Tomi P., Bouyanzer A., Hammouti B., Desjobert J.M., Costa J. & Paolini J.** (2011). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Ptychotis verticillata* from Morocco. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 533-536.

**El Ouariachi E., Bouyanzer A., Salghi R., Hammouti B., Desjobert J.M., Costa J., Paolini J. & Majidi D.** (2015). Inhibition of corrosion of mild steel in 1 M HCl by the essential oil pr solvent extracts of *Ptychotis verticillata*. *Research on Chemical intermediates*, 41: 935-946.

**Ester R., ChamaroSet ,Walter G.,** (2012). Study of the chemical composition of essential oils by Gas Chromatography. *National technological university* ,308-324.

-F-

**Fegueredo G. (2007)** : Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'Origam (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Mémoire de doctorat, Université Blaise Pascal.

**Ferguson L.R. & Philpott M. (2008)**. Nutrition and mutagenesis. *Annu. Rev. Nutr.*, 28: 313-329.

-G-

**Garnero J. (1975)**. Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition des huiles essentielles. *Journée de dermatopharmacie (Nice)*, 105-126.

**Gerhard, R. (1993)**. Métabolisme des végétaux. *Physiologie et biochimie. Edition française*. Presses polytechnique et universitaires romandes .

**Gill AO, HOLLEY RA. (2006)**. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *Int J Food Microbiol* 111: 361–79

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

**Goren AC, Bilsel G, Bilsel M. (2003)**. Analysis of essential oil of *Coridothymus capitatus* (L.) and its antibacterial and antifungal activity. *Z Naturforsch* 58: 687–90 .

**Greuter W, Burdet HM, Long G (1986)** Med-Checklist. A critical inventory of vascular plants of the circum-mediterranean countries, 3. Dicotyledones (Convolvulaceae–Labiatae). Genève & Berlin cxxix pp395

**Grieve M. (1979)**. A modern herbal. Hypertext version of the 1931 Edition. New-York Dover Publications, <http://botanical.com/botanical/mgmh/t/thygar16.html>

**Griffiths M, Huxely AJ. (1992)** The new RHS dictionary of gardening. MacMillan/Stockton Press.

**Guillier L., Nazer A.L, Dubois-Brissonnet F. (2007)**. Growth response of *Salmonella typhimurium* in the presence of natural and synthetic antimicrobials: estimation of MIC<sub>s</sub> From three different models. *J. Food Prot.*, 70(10): 2243-2250.

**Guinochet M., Vilmorin R.** (1975). Flore de France. Ed. C.N.R.S. Fascicule 2.

**Guillon C., Garçon L., Cynober T., Gauthier F., Tchernia G., Delaunay J., Leblanct., Thuret I., Bader-Meunier B.** (2008) Sphérocytose héréditaire : recommandations pour le diagnostic et la prise en charge chez l'enfant. Archives de Pédiatrie. [article in press]

**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. sp. *longifolia*. *Food Chem.*, 103: 1449-1456.

**Guo-Xiang Li, Zai-Qun Liu.** (2008): The protective effects of ginsenosides on human erythrocytes against hemin-induced hemolysis. *Food and Chemical Toxicology* 46(3) : 886-892.

**Guy Deysson** (1967). Organisation et classification des plants vasculaires. Tome II Systématique: cours de botanique générale de D-BACH. M.Mascre et G.Deysson.: 388-389-390.

-H-

**Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A. & Benmansour A.** (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique scienc.*, 05(2): 246-259.

**Halliwell B., Gutteridge J.M.C. & Arnoma O.L.** (1987). The deoxyribose method: A simple test tube assay for the determination of rate constant for reaction of hydroxyl radical. *Anal Biochem.*, 165: 215-219.

**Haoui I., Derriche R., Madani L., Oukali Z.** (2011). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*. xxx, xxx-xxx. doi:10.1016/j.arabjc.2011.05.005

**Hashemi M.B., Niakousari M., Saharkhiz M.J., Eskandari M.H.** (2014). Stabilization of sunflower oil with *Carum copticum* Benth & Hook essential oil. *J. Food Sci. Technol.*, 51(1): 142-147.

**Hazzit M., Baaliouamer A., Faleiro M.L., Miguel M.G.** (2006). Composition of the Essential Oils of *Thymus* and *Origanum* Species from Algeria and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 6314-6321.

**Houmani Z., Azzoudj S., Naxakis G., Skoula M.** (2002). The Essential Oil Composition of Algerian Zaâtar: *Origanum* spp. and *Thymus* spp. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 9(4): 275-280.

**Huang C.C., Wang H.F., Chen C.H., Chen Y.J., Yih K.H.** (2011). A study of four antioxidant activities and major chemical component analyses of twenty-five commonly used essential oils. *J. Cosmet. Sci.*, 62: 393-404.

**Hussain A.I., Anwar F., Hussain Sherazi S.T., Przybylski R.** (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.*, 108: 986-995.

<http://www.google.fr/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fupload>.

-I-

**Ishtiaque S., Khan N., Siddiqui M.A., Siddiqi R. & Naz S.** (2013). Antioxidant Potential of the Extracts, Fractions and Oils Derived from Oilseeds. *Antioxidants*, 2: 246-256.

-J-

**Jagetia G & Baliga M.** (2005). The effect of seasonal variation on the Antineoplastic activity of *Alstonia scholaris* R.Br. in HeLa cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 96 (1-2): 37-42.

**Jamali C.A., El Bouzidi L., Bekkouche K., Lahcen H., Markouk M., Wohlmuth H., Leach D. & Abbad A.** (2012). Chemical Composition and Antioxidant and Anticandidal Activities of Essential Oils from Different Wild Moroccan Thymus Species. *Chemistry & Biodiversity*, 9: 1188-1197.

**Joshi B. S., Ramanujam S., Sahena M. B. L.** (1963), Improvement of some essential oil bearing spice plants. *Bull. Regional Res. Lab. Ja.*, 1:94— 100

**-K-**

**Kambouche N., El-Abed D.** (2003). Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Oran (Algeria). *J of Essential Oil Research*, 15: 10 —11.

**Kedia A., Prakash B., Mishra P. K., Dwivedy A. K. & Dubey N. K.** (2015). *Trachyspermum ammi* L. essential oil as plant based preservative in food system. *Industrial Crops and Products*, 69: 104-109.

**Khajeh M., Yamini Y., Sefidkon F. & Bahramifar N.** (2004). Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 86: 587-591.

**Kholkhal F., Lazouni H. A., Bendahou M., Boublenza I., Chabane Sari D. & Chaouch T.** (2013). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus ciliatus* ssp. *coloratus*. *Afrique SCIENCE*, 09(1): 151-158.

**Kholkhal F.** (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp. *coloratus* et ssp. *eu-ciliatus*. Thèse de doctorat en Biologie, *Université de Tlemcen*, 200.

**Kim E.Y., Baik I.H., Kim J.H., Kim S.R. & Rhyu M.R.** (2004). Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Kor. J. Food. Sci. Technol.*, 36: 333-338.

**Krishnaiah D., Sarbatly R. & Nithyanandam R.** (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89: 217-233

-L-

**Lang G. & Buchbauer G.** (2012). A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. *A review. Flavour Fragr. J.*, 27: 13-39.

**Laouer H., Zerroug M.M., Sahli F., Chaker A.N. Valentini G., Ferretti G., Grande M. & Anaya J.** (2003). Composition and Antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. Essential oil. *Journal of Essential oil Research*, 15: 135-138.

**Lawrence B. M.** (1980). The existence of intraspecific differences in specific genera in the Labiatae family. *Paper presented at Ville international congress of essential oils*, Cannes, 118-123.

**Lahiou M.**, (2004). Methods ta study phytochemistry and bioactivity Of essential ails." *Phytotherapy Research* 18- (435-448).

**L'Harmattan.** (2005). *Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à grasse. Botanique-culture-chimie. Préface : d'Hubert Richard.*

**Li Peiwu., Hopia A., Jaris S., TeijoY. et Heikki V.,** (1999). TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. *Chemistryand Nutrition*, (10): 123-187.

**Li C, Oldham CD., May S.W.N.,** (1994) N-Dimethyl-1,4- phenylenediamine as alternative reductantfor peptidylglycine-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochem. J.* (300): 31-36.

**Lien E.J., Ren S., Bui H.H. & Wang R.** (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants, *Free RadicBiol Med*, 26: 285-294.

**Lopes G.K., Schulman H.M. & Hermes-Lima M.** (1999). Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1472: 142-152.

-M-

**Maestri D.M., Nepote V., Lamarque A.L. & Zygadlo J.A.** (2006). Natural products as antioxidants. In: Filippo, I. (Ed.), *Phytochemistry: Advances in Research*. Res. Signpost, Trivandrum, India, 105-135.

**Magin D.V., Lewin G., Popov I.N., Izmailov Yu D. et Vladimirov Yu A.,** (2000).

Photochemi-luminescence as a tool to determine the antioxidant activity in biological systems, Mathematic modeling. Lavoisier, 419p.

**Maheshwari R.K., Singh A.K., Gaddipati J. & Srimal R.C.** (2006). Multiple biological activities of curcum: a short review. *Life Sci.*, 78: 2081-2087.

**Majinda R.R.T., Abegaz B.M. & Bezabih.** (2001). Recent results from naturel production research at the University of Botswana. *Pure. Appl. chem.*, 73(7): 1197-1208.

**Makarieva T.N., Dmitrenok A.S., Dmitrenok P.S., Grebnev B.B., Stonik V.A.,** (2001). Pibocin B, the first N-Omethylindole marine alkaloid, a metabolite from the Far-Eastern ascidian Eudistoma species. *J. Nat. Prod.* **64,1559–1561.**

**Marc David-Muller 2013** Tissu Sanguin : Le Globule Rouge Et Sa Pathologie. Les Principaux Types D'anemies.

**Marc, J., Mulner-Lorillon, O., & Bellé, R.** (2004). Glyphosate-based pesticides affect cellcycle regulation. *Biol Cell* 96,245-249.

**Mastelić J., Jerković I., Blažević I., Poljak-Blaži M., Borović S., Ivančić-Baće I., Smrečki V., Zarcović N., Brčić-Kostić K., Vikić-Topić D. & Müller N.** (2008). Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, 56: 3989-1996.

**Mau J.L., Lai E.Y.C., Wang N.P., Chen C.C., Chang C.H. & Chyau C.C.** (2003). Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. *Food Chemistry*, 82: 583-591.

**Mazumder J., Kumria R. & Pathak D.** (2014). Evaluation of Synergistic Antimicrobial Activity and Antioxidant Activity of blend of Essential Oil contains Fennel, Coriander, Ajowan and Caraway. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9(1): 87-94.

**Merrad R.** (1973). Contribution à la connaissance de la pharmacopée traditionnelle T Algérienne: Les inventaires du grand Alger. Thèse d'Etat, Institut des Sciences Médicales, université d'Alger, tome II, 312.

**Michalis K, StephanaKisT. Anastasboulos, GhanataKis D.** (2013).Antibacterial activity of essential oil from plants of Genus *origanum*. *Food control* 34:539-546.

**Microsoft® Encarta® (2009).** © 1993-2008 Microsoft Corporation.

**Miguel G., Simões M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. & Carvalho L.** (2004). Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. *Food Chem.*, 86: 183-188.

**Miguel M.G., Cruz C., Faleiro L., Simoes M.F.F., Figueiredo A.C., Barroso J.G. & Pedro L.G.,** (2010). *Foeniculum vulgare*: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Nat. Prod. Commun.*, 5: 319-328.

**Millago H., Guisson IP., Naculma O. & Traore A.S.** (2005). Savoir traditionnel et médicament traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre centre européen de santé humanitaire ; Lyon.

**Miller N.J., Sampson J. & Candeias L.P.** (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Letter*, 384: 240-2.

**Miller N.J. & Rice-Evans C.A.** (1997). The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink, *Food Chem*, 60: 331.

**Mintzer David M, Billet Shira N, Chmielewski Lauren** (2009).*Drug-induced hematologic syndromes. Advances in hematology* 495863.

**Moon J.K. & Shibamoto T.** (2009). Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57: 1655-1666.

**Morales R.** (1997) Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagascalia*.19(1-2): 249-62.

**Moussaoui Soumia et Harkati Zeyneb,** (2013). Contribution a l'étude phytochimique et l'effet hémolytique de trois plante utilisée pour le traitement du diabète contenant (*Eucalyptus globulus*, *Haloxylon scoparium* et *Marrubium vulgare*) DES biochimie, département biologie, Faculté SNV STU université Tlemcen (Algérie).

-N-

**Narayana C., Somayajulu B. A. R., Thirumala S. D.** (1967). Recovery of fatty oil from spent seeds of Ajowan (*Trachyspermum ammi* Linn.). *Indian J of Technology*, 5: 268 - 269.

**Naves Y.R.,** (1974). Technologie et chimie des parfums naturels. Ed. Masson et Cie (Paris). pp 326.

**Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD.** (1996) Herbal medicines: A guide for health- professionals. London: The Pharmaceutical Press. 3-121.

**Nickavar B., Adeli A. & Nickavar A.** (2014). TLC-Bioautography and GC-MS Analyses for Detection and Identification of Antioxidant Constituents of *Trachyspermum copticum* Essential Oil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1): 127-133.

-O-

**Okunda A.L.** (2002). *Ageratum conyzoides*.L. (Asteraceae), *Fitoterapia*, 73 (1):1-16.

**Olivier Preynat-Seauve, André Deom, Dagmar Kessler** FICHE TECHNIQUE : 31  
Échantillon hémolysé, lipémique, ictérique CSCQ Juin 2010.

**Oliveira, M.R.L., Gonçalves, L.R.C., Santoro, M.L., Sano-Martins, I.S., (1999).** Intravascular hemolysis induced by *Lonomia obliqua* caterpillars bristle extract: an experimental envenomation in rats. *Anais da 7a Reunião Anual SBPN Pesquisa, Desenvolvimento e Integração*. Londrina, pp. 110–116.

**Oussalah M., Caillet S., Saucier L., & Lacroix M. (2007).** Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18(5): 414-420.

**Öztürk M. (2012).** Anticholinesterase and antioxidant activities of savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil. *Food Chem.*, 134: 48-54.

-P-

**Padrini, F., Lucheroni M. T. (1996).** Le grand livre des huiles essentielles - guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et L'aromassage Energetiques avec Plus de 100 Photographies. Edition De Vecchi, Paris. 11, 15, 61 et 111.

**Pariente.L (2001) :** Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologique 2<sup>ème</sup> Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris ] 643 p.

**Pedersen JA. ( 2000)** Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy. *Biochem Syst Ecol*; 28: 229-53.

**Pibiri M.C., (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse no 3311, présentée à la faculté environnement naturel, architectural et construit institut des infrastructures, des ressources et de l'environnement section d'architecture pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Ecole polytechnique fédérale de lausanne.

**Pinto E., Salgueiro R., Carlos Cavaleiro C., Palmeira A., Gonçalves M.J.** (2007). In vitro susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. *Industrial Crops and Products* 26 :135-141.

**Politeo O., Jukić M. & Miloš M.** (2007). Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chem.*, 101: 379-385.

**Prior R.L., Wu X. & Schaich K.** (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4290-4302.

**Priya R., Prathapan A., Raghu K.G. & Menon A.N.** (2012). Chemical composition and *in vitro* antioxidative potential of essential oil isolated from *Curcuma longa* L. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S695-S699.

**PURCHON, N.**, La bible de l'aromathérapie Edition Marabout, 2001 .

#### -Q-

**Qiu, J., Zhang, X., Luo, M., Li, H., Dong, J., Wang, J., Leng, B., Wang, X., Feng, H., Ren, W., Deng, X.** (2011). Subinhibitory concentrations of perilla oil affect the expression of secreted virulence factor genes in *Staphylococcus aureus*. *PloS One* 6. e16160.

**Quezel P. & Santa S.** (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. *Edition du centre national de la recherche scientifique. Paris France*, 603.

#### -R-

**Rashid M.A., Gustafson K.R., Boyd M.R.** (2001). New cytotoxic N-methylated beta-carboline alkaloids from the marine ascidian *Eudistoma gilboverde*. *J. Nat. Prod.* 64 : 1454– 1456.

**Raut J.S. & Karuppayil S.M.** (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62: 250-264.

**Rengasamy RRK, Radjassegarin A, Palanisamy I, Thirunavukarasu T, Perumal A,** (2013). *In vitro* antibacterial, cytotoxicity and haemolytic activities and phytochemical analysis of seagrasses from the Gulf of Mannar, South India. *Food Chemistry*, 136: 1484-1489.

**Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26: 1231-1237.

**Richard H.** (1989). Les arômes. Cahiers de nutrition et de diététique. XXIV, 2, 2-6.

**Richard H.** (1992). Epices et herbes aromatiques. Tec et doc. Lavoisier, Paris.

E.N.S.I.A- Massy Cedex.

**Ruberto G. & Baratta M.T.** (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.*, 69: 167-174.

**Ryman D.** (1992). Aromatherapy: The encyclopaedia of plants and oils and how they help you. London, UK: Piatkus pp. 163-5.

-S-

**Sahreen S., Khan M.R. & Khan R.A.** (2010). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chem.*, 122: 1205-1211.

**Sanchez-Vioque R., Polissiou M., Astraka K., Mozos-Pascual M., Tarantilis P., Herraiz-Penalver D. & Santana-Meridas O.** (2013). Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry. *Ind. Crops Prod.*, 49: 150-159.

**Sangwan N.S., Farooqui A.H.A., Shabih F. & Sangwan R.S.** (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul.*, 34: 3-21.

**Schwarz K, Ernst H, Ternes W.** Evaluation of antioxidative constituents from thyme. *J Sci Food Agric* 1996; 70(2): 217-23.

**Schupp P., Eder C., Proksch P., Wray V V., Schneider B., Herderich M., Paul V V.** (1999). Staurosporine derivatives from the ascidian *Eudistoma toeaensis* and its predatory flatworm *Pseudoceros* sp. *J. Nat. Prod.* 62, 959–962.

**Senthilkumar A. & Venkatesalu V.** (2013). Chemical constituents, in vitro antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from the fruit pulp of wood apple, *Industrial Crops and Products*, 46: 66-72.

**Shahat, A.A., Ibrahim, A.Y., Hendawy, S.F., Omer, E.A., Hammouda, F.M., Abdel-Rahman F. & Saleh M.A.** (2011). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. *Molecules*, 16: 1366-1377.

**Siddhuraju P. & Becker K.** (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) seed extracts. *Food Chem.*, 101: 10-19.

**Sijelmassi A.** (1991). Les plantes médicinales du Maroc. 2<sup>ème</sup> éd. *Le fennec*.

**Singh G., Maurya S., Marimuthu P., Murali H.S. & Bawa A.S.** (2007). Antioxidant and antibacterial investigations on essential oils and acetone extracts of some spices. *Natural Product Radiance*, 6(2): 114-121.

**Singh H.P., Kaur S., Mittal S., Batish D.R. & Kohli R.K.** (2010b). In vitro screening of essential oil from young and mature leaves of *Artemisia scoparia* compared to its major constituents for free radical scavenging activity. *Food Chem. Toxicol.*, 48: 1040-1044.

**Sokmen A., Gulluce M., Akpulat A. H., Deferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M. & Sahin F.** (2004). The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*, 15: 627-634.

**Sokolova SM, Buzuk GN, Lovkova MY, Tyutekin YV.** (2005). Membranotropic compounds and alkaloid accumulation in plants. *Dokl Biochem Biophys* 402: 220–2.

**Solomakos N., Govaris A., Koidis P. & Botsoglou N.** (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Science*, 80: 159-166.

**Sparg SG, Light ME, Van Staden J.** (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94: 219–243.

**Srivastava M., Saxena A., Baby P.** (1999). GC-MS investigation and antimicrobial activity of the essential oil of *Carum copticum* Benth & look. *Acta Alimentaria*, 28: 291-295.

**Stahl-Biskup.** (2002) Elisabeth *Citation Information* Thyme The Genus *Thymus* Edited by Elisabeth Stahl-Biskup and Francisco CRC Press Print ISBN: 978-0-415-28488-2 eBook ISBN: 978-0-203-21685-9.

#### -T-

**Tefiani C.** (2015): Les propriétés biologiques des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*. Thèse de Doctorat en sciences de l'université de Mostaganem. 145 pages.

**Tel G., Ozturk M., Duru M.E., Harmandar M. & Topcu G.** (2010). Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 3189-3193.

**Tepe B., Donmez E., Unlu M., Candan F., Daferera D., Vardar-Unlu G., Polissiou M. & Sokmen A.** (2004). Antimicrobial and antioxidative activities of the essential

oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbr et et Aucherex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chem.*, 84: 519-525.

**Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A., Daferera D., Polissiou M. & Sokmen A.** (2005). Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering*, 66.

**Teuscher E., Anton R. & Lobstein A.** (2005). plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc editions, Paris.

**Thirugnanasampandan R., Jayakumar R. & Prabhakaran M.** (2012). Analysis of chemical composition and evaluation of antigenotoxic, cytotoxic and antioxidant activities of essential oil of *Toddalia asiatica* (L.) Lam. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1276-S1279.

**Touati M, Diene SM, Dekhil M.** (2013) Dissemination of class I integron carrying VIM-2 carbapenemase gene in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from intensive care unit of University Hospital of Annaba, Algeria. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 2426–7.

**Tomaino A., Cimino F., Zimbalatti V., Venuti V., Sulfaro V., De Pasquale A. & Saija A.** (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chem.*, 89: 549-554.

**Trabut L.** (1935). Flore du Nord de l'Afrique: Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique. *Collection du Centenaire de l'Algérie*, Alger.

**Tripathi R., Mohan H. & Kamat J.P.** (2007). Modulation of oxidative damage by natural products. *Food Chem.*, 100: 81-90.

**Tsai M.L., Lin C.C., Lin W.C., & Yang C.H.** (2011). Antimicrobial, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils from Five Selected Herbs. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75(10): 1977-1983.

-U-

**Ucar K.** (2002). Clinical presentation and management of hemolytic anemias. *Oncology (Hunting)*. 9: 163-70.

**Ultee A., Bennink M.H.J. & Moezelaar R.** (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4): 1561-1568.

**Undeğer U., Başaran A., Degen G.H. & Başaran N.** (2009). Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in V79 Chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of carvacrol and thymol. *Food Chem. Toxicol.*, 47: 2037-2043.

**Upadhyay, A., Johny, A. K., Amalaradjou, M. A. R., Baskaran, S. A., Kim, K. S., Venkitanarayanan K.** (2012). Plant-derived antimicrobials reduce *Listeria monocytogenes* virulence factors *in vitro*, and down-regulate expression of virulence genes. *Int. J. Food Microbiol.* 157: 88-94.

-V-

**Valnet, J.**, Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes ,Ed.Maloine S.A,n°10,1984.

**Van Maarseveen J H., Hermkens PH., De Clercq E., Balzarini J., Scheeren H W., Kruse C.G.,** (1992). Antiviral and antitumor structure-activity relationship studies on tetracyclic eudostomines. *J. Med. Chem.* 35:3223–3230.

**Viaud H.** (1993). Les huiles essentielles et leur distillation. Thérapeutiques naturelles-GNOMA.

**Vincken, J.-P., Heng, L., Groot, A., Gruppen, H.** (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* 68: 275–297.

**Viuda-Martos M., Navajas Y.R., Zapata E.S., Fernández-López J. & Pérez-Álvarez J.A.** (2010). Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour Fragr. J.*, 25: 13-19.

**Viuda-Martos M., Mohamady M.A., Fernández-López J., Abd ElRazik K.A., Omer E.A., Pérez-Alvarez J.A. & Sendra E.** (2011). *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*, 22: 1715-1722.

**-W-**

**Wajeman h., Lantz B., Girot R.** (1992). - les maladies du globule rouge.- 2e édition ; Paris : INSERM.

**Wehmer C.** (1931). Die pflanzenstoffe: Botanisch-systematisch bearbeitet. *Verlag Von Gustav Fisher*, pp 879 - 880.

**Wendakoon CN, Sakaguchi M.** (1995). Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *J Food Protect* 58: 280–3.

**Willem, J.P.** (2002). Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV.

**-Y-**

**Yuerdon, M.** (2004) La médecine naturelle au service de votre beauté et santé, 2-3, Edition suisse.

**-Z-**

**Zargari A.** Medicinal Plants. Vol. 4. Tehran: Tehran University Publications 1990; pp. 28-42.

**Zubair M, Bibi Za, Rizwan K, Rasool N, Zahoor AF, Riaz M, (2013).** In Vitro Antimicrobial and Haemolytic Studies of *Bambusa arundinaceae* leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **3(4)**: 111-115.

# Annexe

## **PBS**

Phosphate buffered saline (PBS) est une solution tampon très utilisée dans la recherche biologique moderne. Parce qu'il considère comme isotonique et non toxique pour la cellule. Utilisé aussi pour la maintenance de pH constant, l'osmolarité.

Contient :

Le chlorure de sodium (**KCl**) (2,7mM).

Le chlorure de potassium (**NaCl**) (137mM).

Phosphate de potassium (**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>**) (2mM).

Phosphate de Sodium (**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**) (8mM).

### المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد الخصائص البيولوجية (النشاطات المضادة للأكسدة و نشاطات انحلال الدم) للزيوت الأساسية المستخرجة من نوعين من النباتات، الزعيترة والنوخة . التي تتموقع في أقصى الشمال الغربي للجزائر (تلمسان).

فالنسبة للنشاطات المضادة للأكسدة فقد تم تحديدها بواسطة ثلاث طرق بينما نشاطات انحلال الدم فقد تم تقييمها في دم متبرع سليم.

من جهة أظهر الزيت الأساسي للزعيترة على نشاط المضاد للأكسدة لكن بالنسبة لمؤشر انحلال الدم فهو منخفض بنسبة 35 % أما بالنسبة للنوخة فقد أظهرت نتائج جيدة من خلال تثبيط جذر DPPH (IC<sub>50</sub>=0,0422 mg/mL) و ABTS (IC<sub>50</sub>= 0,0013 mg/mL).

وبذلك كشفت الدراسات الحالية على نشاطات بيولوجية مهمة للزيوت الأساسية لزعيترة والنوخة و التي قد تشكل تمهيدا لدراسات داخل الجسم تهدف إلى جعل هذه النباتات مصادر طبيعية مضادة للأكسدة ومانعة للانحلال .

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت الأساسية، النوخة، الزعيترة، النشاطات المضادة للأكسدة، نشاطات انحلال الدم .

### Résumé

Ce travail a pour but de la détermination des propriétés biologiques in vitro ( Activité antioxydante et hémolytique ) des huiles essentielles de deux plantes originaires( *Ammoïdes verticillata* et de *Thymus ciliatus ssp.eu-ciliatus*) de Nord-Ouest d'Algérie (région de Tlemcen), En fait, Les activités antioxydants in vitro ont été déterminer par trois analyses , tandis que l'activité hémolytique ont été évaluées sur les globule rouge d'un donneur unique et sain.

D'une part, l'huile essentielle de *Thymus ciliatus ssp.eu-ciliatus* a montré une forte activité sur le radical hydroxyle et un index hémolytique inférieur (35%). D' autre part, *Ammoïdes verticillata* a donné un bon résultat sur DPPH (IC<sub>50</sub>=0,0422 mg/ml) et sur ABTS (IC<sub>50</sub>= 0.0013 mg/ml). L'étude courante a indiqué des activités biologiques importantes et intéressantes des d'huiles essentielles de *T.Ciliatus* et d'*A.verticillata*, qui constituent un prélude sur les études in vivo qui visent à autoriser ces plantes en tant que sources normales d'antioxydant, et non hémolytique.

**Mots clés :** Huiles essentielles –*Ammoïdes verticillata*-*Thymus ciliatus ssp. eu-ciliatus* -Activités antioxydantes –Activités hémolytiques.

### Abstract

The present study was aimed at determining the biology properties in vitro (hemolysis and antioxydant activity) of essential oils extracted from two kinds of plants (*Ammoïdes verticillata* and *Thymus ciliatus*) from the extreme North-West of Algeria (Tlemcen). In fact, in vitro antioxydant activities have been determined by three assays while hemolysis capacities have been assessed on healthy donor's erythrocytes. On the one hand, T.Ciliatus essential oil showed a high activity on hydroxyl radical and a lower hemolysis index (35%). On the other hand, A. verticilata showed good results on DPPH (IC<sub>50</sub>=0, 0422 mg/mL) and on ABTS (IC<sub>50</sub>= 0,0013 mg/mL). The current study revealed important and interesting biology activities of *T.Ciliatus* and *A.verticilata* essential oils, which constitute a prelude on in vivo studies that aim to empower those plants as natural sources of antioxydant.

**Key words:** Essential oils- *Ammoïdes verticilata*- *Thymus ciliatus ssp.eu-ciliatus*- Antioxidants activity- Hemolysis activity.