

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



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEM

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire des substances naturelles et bioactives

(LASNABIO)

**MEMOIRE**

Présenté pour obtenir le diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Option : **Molécules Bioactives : Synthèses et Applications**

Présenté Par: *Melle DAOUDI Fatiha*

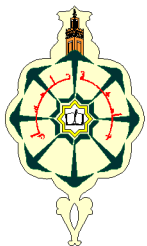
**Titre**

**Analyse chimique et propriétés biologiques des huiles essentielles de  
*Chiliadenus rupestris* et *Thymus coloratus* (Zaater)  
de la région de Tlemcen**

**Devant les membres du jury**

Président	Zoheir Arrar	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
Examineurs	Nabila AINSEBA	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
	Mohammed El Amine Dib	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mourad BENDAHOU	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2015-2016



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



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEM

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire des substances naturelles et bioactives

(LASNABIO)

**MEMOIRE**

Présenté pour obtenir le diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Option : **Molécules Bioactives : Synthèses et Applications**

Présenté Par: *Melle DAOUDI Fatiha*

**Titre**

**Analyse chimique et propriétés biologiques des huiles essentielles de  
*Chiliadenus rupestris* et *Thymus coloratus* (Zaater)  
de la région de Tlemcen**

**Devant les membres du jury**

Président	Zoheir Arrar	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
Examineurs	Nabila AINSEBA	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
	Mohammed El Amine Dib	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mourad BENDAHOU	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2015-2016

## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mon père Mustapha et ma mère Hafida qui m'ont soutenu moralement tout au long de mes études.

A mon grand-père et mes grands-mères.

Aussi je dédie ce travail.

A mon mari Abdelhak

A mes frères Mohammed et Zakaria.

A ma sœur Marwa.

A mes oncles et mes tantes.

A toutes les familles: Daoudi et Benyoub.

A ma chère amie Imane.

A la mémoire de Asma AghaMir (رحمها الله)

## Remerciements

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche au laboratoire des substances naturelles bioactives (LASNABIO) et au laboratoire de microbiologie appliquée à l'agro-alimentaire au biomédical et à l'environnement (LAMAABE), sous la direction de monsieur M. Bendahou professeur au Département de Biologie, Faculté SNV/STU, Université ABB de Tlemcen.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent à mon promoteur le Pr M. Bendahou, qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail, de m'avoir accordé sa confiance et m'a guidé dans mon travail tout au long de cette année.

Je remercie monsieur Z. Arrar Maître de conférence au département de chimie, faculté des sciences, université ABB de Tlemcen qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

J'adresse mes remerciements à Madame N. Ainseba Maître de conférence et Monsieur M.A. Dib professeur au département de chimie, faculté des sciences, université ABB de Tlemcen pour accepter d'examiner ce travail.

Je remercie tous les membres du laboratoire de chimie des produits naturels, université de Corse (France), et les membres du laboratoire COSNA (Tlemcen) pour l'analyse des huiles essentielles par CPG/Ir et CPG/SM.

Je tiens également à remercier chaleureusement monsieur B. Medjahedi, maître de conférences à l'université de Tlemcen pour sa compétence et son aide dans l'identification des plantes.

Je tiens à remercier beaucoup plus Mme C. Bellahcène et Mr A. Khadir pour leurs aides dans la réalisation des tests biologiques

Un grand merci à tous les collègues de la promotion du Master MBSA et mes amies de biologie Imane et Lamia.

Merci

**Titre :** Analyse chimique et propriétés biologiques des huiles essentielles de *Chiliadenus rupestris* et *Thymus coloratus* (Zaater) de la région de Tlemcen

**Résumé :**

Le présent travail porte sur l'étude de la composition chimique et les propriétés biologique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques endémiques de la région de Tlemcen: *Chiliadenus rupestris* et *Thymus ciliatus ssp coloratus*.

L'analyse des huiles essentielles par CPG et CPG/SM a montré que l'huile essentielle de *Chiliadenus rupestris* est riche en bornéol (31,2%) alors que l'huile essentielle de *Thymus coloratus* est riche en camphre (20,7%).

L'évaluation des propriétés biologiques in vitro des deux huiles essentielles, a montré que les huiles de *T. coloratus* et *C. rupestris* ont une modeste activité antimoisissure (92,5% et 78,75% respectivement). L'huile essentielle de *T. coloratus* a un pouvoir antiradicalaire élevé par rapport à celui de l'huile essentielle de *Chiliadenus* (IC50 = 0,023 et IC50= 2,62 mg/ml respectivement). L'effet hémolytique a révélé que les deux huiles essentielles provoquent une lyse des globules rouges après 30 min de réaction (20,61% pour *Thymus* et 6,18% pour *Chiliadenus*).

**Mots clés :** Huiles essentielles, CPG/SM, activité antiradicalaire, activité antimicrobienne, activité hémolytique, *Thymus coloratus*, *Chiliadenus rupestris*.

**Title :** chemical analysis and biological properties of essential oils of *Chiliadenus rupestris* and *Thymus coloratus* (Zaater) in the region of Tlemcen

**Abstract:**

The present work gets to study the chemical composition and biological properties of essential oils of two endemic aromatic plant in the region of Tlemcen : *Chiliadenus rupestris* and *Thymus ciliatus ssp coloratus*.

Analysis of essential oils by GC and GC / MS showed that the essential oil of *Chiliadenus rupestris* is rich in borneol (31,2%), while the essential oil of *Thymus coloratus* is rich in camphor (20,7%).

The evaluation of the biological properties in vitro of two essential oils has shown that the oils *T. coloratus* and *C. rupestris* have a modest anti-mold activity (92,5% and 78,75% respectively). The essential oil of *T. coloratus* has a high anti-radical power relative to essential oil of *Chiliadenus rupestris* (IC<sub>50</sub> = 0,023 and IC<sub>50</sub> = 2,62 mg / ml respectively). The hemolytic effect shown that two essential oils cause lysis of red blood cells after 30 minutes of reaction (20,61% for *Thymus* and 6,18% for *Chiliadenus*).

**Keywords:** essential oils, GC/MS, anti-radical activity, antimicrobial activity, hemolytic activity, *Thymus coloratus*, *Chiliadenus rupestris*

العنوان : تحليل الخواص الكيميائية و البيولوجية للزيوت الأساسية ل *Chiliadenus rupestris* و *Thymus coloratus* في منطقة تلمسان

## الملخص:

يندرج هذا العمل في إطار دراسة التركيب الكيميائي و الخصائص البيولوجية لاثنتين من النباتات العطرية المستوطنة في منطقة تلمسان *Thymus coloratus* و *Chiliadenus rupestris*.

أظهر تحليل الزيوت الأساسية عن طريق CPG-CPG /SM أن الزيت الأساسية ل *Chiliadenus rupestris* غنية بالبورنيول بنسبة %31,2 أما الزيت الأساسية ل *Chiliadenus rupestris* فهي غنية بالكافور بنسبة %20,7.

و أظهرت الخصائص البيولوجية في المختبر أن لهذه الزيوت الأساسية *Thymus coloratus* و *Chiliadenus rupestris*

فعالية متواضعة مثبطة لمكافحة العفن (75, 92,5-78% على التوالي). كما أظهر تقييم النشاط المضاد للجذور الحرة للزيوت الأساسية على أن *Thymus coloratus* لها تركيز فعال مقارنة مع *Chiliadenus rupestris* (  $IC_{50}=0,023$  و  $IC_{50}=2,62$  مغ/ملل. وفقا لدراسة النشاط الانحلالي وجدنا أن الزيوت الأساسية تحلل كريات الدم الحمراء بعد ثلاثين دقيقة ، 20,61 و ، 6,18% *Thymus coloratus* و *Chiliadenus rupestris* على التوالي.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الاساسية ، CPG/SM ، الفعالية المضادة للأكسدة ، الفعالية المضادة للبكتيريا ، النشاط الانحلا لي *Thymus coloratus* و *Chiliadenus rupestris*.

## Sommaire

Introduction générale.....	1
<b>PARTIE 1: Etude bibliographique</b>	
I. Généralités sur les espèces <i>Chiliadenus rupestris</i> et <i>Thymus coloratus</i> .....	3
I-1- <i>Chiliadenus rupestris</i> .....	3
I-1-1-Description botanique de <i>Chiliadenus rupestris</i> .....	4
I-1-2-Classification de l'espèce <i>Chiliadenus rupestris</i> .....	5
I-1-3-Utilisations traditionnelles et pharmacologiques.....	5
I-1-4-Etudes phytochimiques antérieures .....	6
I-2- <i>Thymus coloratus</i> .....	7
I-2-1-Description botanique de <i>Thymus coloratus</i> .....	9
I-2-2-Classification botanique.....	11
I-2-3-Propriétés thérapeutiques.....	12
I-2-4-Travaux antérieures sur la composition chimique de <i>T. ciliatus</i> ssp <i>coloratus</i> .....	12
II. Généralité sur les Huiles essentielles.....	17
II-1 Aromathérapie.....	17
II-2 Définition de l'huile essentielle.....	17
II-3 Composition chimique.....	17
II-4 Propriétés physico-chimiques des HE .....	17
II-5 Domaines d'utilisations.....	18
II-6 Toxicité des huiles essentielles.....	18
II-7 Méthodes d'extractions.....	19
<b>PARTIE 2: Matériels et méthodes</b>	
1- Provenance du matériel végétal.....	20



2- Extraction de l'huile essentielle.....	20
2-1- Détermination de rendement.....	21
3- Analyse de la composition chimique des huiles essentielles.....	21
4- Tests microbiologiques.....	22
4-1- Provenance des souches testées .....	22
4-2- Conservation des souches.....	23
4-3- Les milieux de culture.....	23
4-4- Préparation des inoculums.....	23
4-5- Méthodes d'évaluation du pouvoir antimicrobien.....	23
4.5.1. Méthode de Vincent (Aromatogramme).....	23
4.5.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	24
4.5.3. Antibiogramme.....	26
5- Pouvoir antioxydant.....	26
6- Pouvoir hémolytique (test de cytotoxicité).....	28
 <b>Partie 03 : Résultats et discussion</b>	
1-Calcul de rendement en huile essentielle.....	29
2-Analyse des huiles essentielles.....	30
3- Résultats de l'activité antimicrobienne.....	31
4- Résultats de l'activité antiradicalaire.....	35
5- Résultats du pouvoir hémolytique.....	37
Conclusion générale.....	39
Références bibliographiques.....	40
Annexes.....	47

## Liste des figures.

<b>Figure 1</b> : Aire de distribution des espèces du genre <i>Chiliadenus</i> .....	3
<b>Figure 2</b> : Plante de <i>Chiliadenus rupestris</i> .....	5
<b>Figure 3</b> : Feuille de <i>C. rupestris</i> .....	5
<b>Figure 4</b> : Aire de distribution des espèces du genre <i>Thymus</i> .....	8
<b>Figure 5</b> : <i>Thymus ciliatus</i> .....	10
<b>Figure 6</b> : <i>Ssp euciliatus</i> .....	10
<b>Figure 7</b> : <i>Ssp coloratus</i> .....	10
<b>Figure 8</b> : Montage de type Clevenger pour l'extraction des HE.....	21
<b>Figure 9</b> : Schéma de préparation des dilutions de l'huile essentielle.....	25
<b>Figure 10</b> : Schéma de la méthode de microplaque.....	25
<b>Figure 11</b> : Réaction du DPPH avec un antioxydant.....	27
<b>Figure12</b> : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>Chiliadenus rupestris</i> (Maghnia).....	47
<b>Figure 13</b> : Profil chromatographique de l'huile essentielle de <i>Thymus coloratus</i> (Bouhanak).....	47
<b>Figure 14</b> : Effet du deux H.E sur la bactérie <i>Sa</i> .....	48
<b>Figure 15</b> : Effet du deux H.E sur la bactérie <i>Lm</i> .....	48
<b>Figure 16</b> : Effet de <i>T.coloratus</i> (100µl) Sur <i>Asp flavus</i> .....	48
<b>Figure 17</b> : Effet de <i>T.coloratus</i> (50µl) sur <i>Asp flavus</i> .....	48
<b>Figure 18</b> : Pourcentage d'inhibition par l'acide ascorbique.....	35
<b>Figure 19</b> : Pourcentage d'inhibition par le BHT.....	36
<b>Figure 20</b> : Pourcentage d'inhibition par l'HE de <i>C. rupestris</i> et du <i>T. coloratus</i> .....	36
<b>Figure 21</b> : Taux hémolytique des deux H.E <i>C. rupestris</i> et <i>T. coloratus</i> .....	38

## Liste des tableaux.

<b>Tableau 1:</b> Classification de l'espèce <i>Chiliadenus rupestris</i> .....	5
<b>Tableau 2:</b> Classification botanique de <i>Thymus coloratus</i> .....	11
<b>Tableau 3:</b> Travaux antérieure sur le genre <i>Thymus</i> .....	13
<b>Tableau 4:</b> Les stations géographiques de récolte des plantes aromatiques situations géographiques et leurs étages bioclimatiques.....	20
<b>Tableau 5:</b> Les différents microorganismes testés.....	22
<b>Tableau 6:</b> Les antibiotiques utilisés.....	26
<b>Tableau 7:</b> Teneurs en huiles essentielles obtenues par hydrodistillation de <i>Chiliadenus rupestris</i> et <i>Thymus coloratus</i> .....	29
<b>Tableau 8:</b> Tableau comparatif des teneurs en HE des espèces de <i>Chiliadenus</i> et de <i>Thymus</i> .....	29
<b>Tableau 9:</b> Composition chimique partielle (%) des huiles essentielles de <i>C. rupestris</i> et <i>T. coloratus</i> obtenues par hydrodistillation.....	30
<b>Tableau 10:</b> Diamètres (en mm) des zones d'inhibition de l'effet des huiles essentielles de <i>C. rupestris</i> et de <i>T. coloratus</i> et des antibiotiques vis-à-vis des bactéries et levures.....	32
<b>Tableau 11:</b> Diamètre de croissance mycélien (en mm) et taux d'inhibition I (en%) <i>Aspergillus flavus</i> (Af) 994224 en fonction de différentes concentrations d'huiles essentielles de <i>C. rupestris</i> et de <i>T. coloratus</i> .....	33
<b>Tableau 12:</b> Résultats de l'activité antimicrobienne des HE de <i>C. rupestris</i> et <i>T. coloratus</i> exprimés par CMI ( $\mu\text{g/mL}$ ).....	34
<b>Tableau 13:</b> Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Chiliadenus rupestris</i> .....	49
<b>Tableau 14:</b> Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Thymus coloratus</i> .....	49
<b>Tableau 15:</b> IC50 des HE étudiées, du BHT et de l'acide ascorbique.....	37
<b>Tableau 16:</b> Les taux hémolytiques (en %) des HE de <i>C. rupestris</i> et <i>T. coloratus</i> en fonction de temps.....	37

## Liste des abréviations

**%** : Pourcentage.

**Abs** : Absorbance.

**Afnor** : Association Française de Normalisation.

**Bc** : *Bacillus cereus*.

**Bs** : *Bacillus subtilis*.

**B.n** : Bouillon nutritif.

**Ca** : *Candida albicans*.

**cm** : Centimètre.

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse.

**CPG/SM** : Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de masse.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**DPPH•** : Radical 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl.

**Ec** : *Echerichia coli*.

**Ef** : *Enterococcus faecalis*.

**ETOH** : Ethanol.

**h** : Heur.

**HE** : Huile Essentielle.

**IPP** : *Candida albicans*.

**Kp** : *Klebsiella pneumoniae*.

**Lm** : *Listeria monocytogenes*.

**mg** : Milligramme.

**MgCl<sub>2</sub>** : Chlorure de magnésium.

**MgSO<sub>4</sub>** : Sulfate de magnésium.

**min** : Minute.

**ml** : Millilitre.

**mm** : Millimètre.

**mM** : Milimolaire.

**nm** : Nanomètre.

**NaCl** : Chlorure de sodium.

**Pa** : *Pseudomonas aeruginosa*.

**PBS** : Le tampon de sodium phosphate salé

**PDA** : Potatose Dextrose Agar.

**Sa** : *Staphylococcus aureus*.

**Ssp** : Sous-espèce.

**µl** : Microlitre.

# **Introduction**

### Introduction

Le recours aux plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grecque, romaine, indienne, chinoise et arabo musulmane.

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. Bien qu'une grande partie du XXème siècle a été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs *via* le screening de sources naturelles a conduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines [1].

De nos jours, de très nombreuses plantes sont utilisées par une majorité des habitants du globe en médecine traditionnelle. Les plantes (entières ou parties) ayant une activité thérapeutique reconnue, sont inscrites à la Pharmacopée. Certaines plantes citées en pharmacopée sont utilisées en :

- Phytothérapie (plantes entières ou parties de plantes, ex. tisanes).
- Aromathérapie (huiles essentielles ou essences).
- Allopathie (présence d'extraits végétaux dans certaines spécialités, molécules actives extraites de plantes...).

Les plantes sont très complexes du point de vue de leur composition chimique. Elles sont formées de plusieurs milliers de constituants différents, quelques-uns ou parfois un seul est responsable de l'effet thérapeutique ou de l'effet toxique.

Les composés purs sont généralement utilisés quand les principes actifs des plantes produisent une forte et spécifique activité ou possèdent un faible indice thérapeutique [2]

Donc il faut connaître les principes actifs de ces plantes médicinales pour étudier leur efficacité, leur mode d'action et aussi leurs effets secondaires sur la santé humaine.

Dans le cadre de la recherche de molécules à activités biologique nouvelles d'origine végétale, il est donc préférable de ne pas baser le choix des plantes à étudier sur le hasard, mais de le circonscrire selon divers critères. Le plus utilisé est celui de leur emploi en médecine traditionnelle ou populaire qui valorise l'expérience accumulée par les autochtones dans le monde

entier, y compris dans les pays occidentaux. Une autre possibilité est de considérer l'écosystème dans lequel se développent les espèces végétales.

La flore Algérienne, avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques [3], n'est pas explorée totalement mais il reste beaucoup de plantes dont la composition chimique est non connue.

Dans le cadre de la valorisation de la flore aromatique et médicinale de l'ouest Algérien, nous nous sommes proposé d'étudier deux espèces endémiques de l'Afrique du Nord : *Chiliadenus rupestris* (synonyme : *Jasonia rupestris*) et *Thymus coloratus*. Le choix de ces deux espèces a été basé (i) sur leur utilisation traditionnelle par la population (antioxydant et anti-inflammatoire), (ii) il n'y a pas de travaux réalisés sur ces deux plantes.



**Etude  
bibliographique**

## I. Généralités sur les espèces *Chiliadenus rupestris* et *Thymus coloratus*

### I-1- *Chiliadenus rupestris*

Le genre *Chiliadenus* de la famille des Astéracée, a été décrit pour la première fois par le botaniste Français Cassini (Alexandre Henri Gabriel de Cassini). Il a pour synonyme *Jasonia* [4].

Les espèces appartenant au genre *Chiliadenus* Cass. sont réparties dans la méditerranée occidentale [5] (Fig. 1). Les plantes sont herbacées, vivaces, à feuilles alternées, sessiles, ovales à lancéolées, glandulaires et poilus. Les capitules sont homogame, discoïde, solitaire et en grappe.

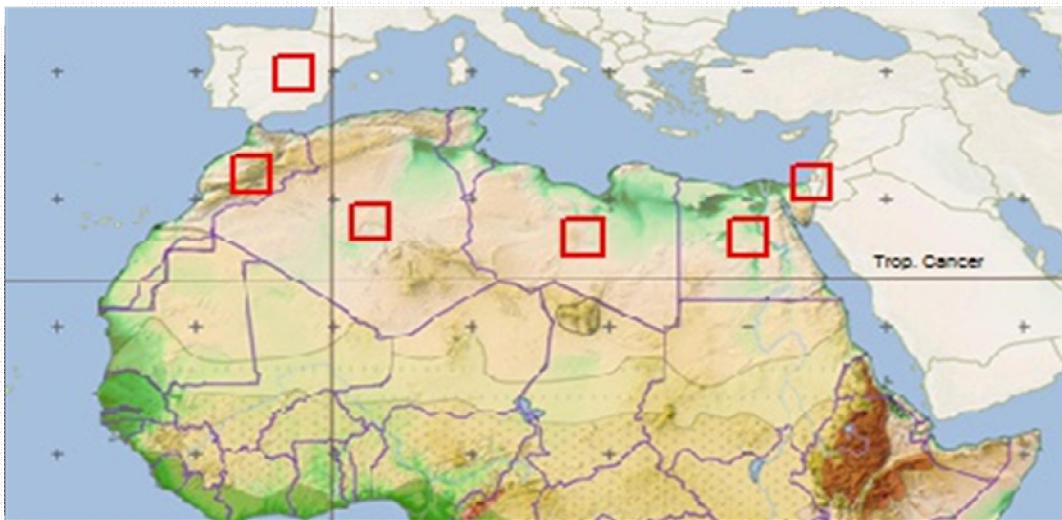


Fig. 1 : Aire de distribution des espèces du genre *Chiliadenus* [7].

On connaît plusieurs espèces [6]:

- \* *Chiliadenus bocconeii* Brullo (Archipel maltais);
- \* *C. candicans* (Del.) Brullo [= *Candicans varthemia* (Del.) Boiss.] (Égypte, Libye)
- \* *C. hesperius* (Maire et Wilczek) Brullo (= *Jasonia hesperia* Maire et Wilczek), (Anti-Atlas: Tachilla sud du Maroc) ;
- \* *C. iphionoides* (Boiss. &Bl.) Brullo [= *Jasonia iphionoides* Botsch] (Isthmic Desert (Égypte), le Liban, la Palestine) ;

\* *C. montanus* (Vahl) Brullo [= *Varthemia conyzoides*] (DC.) Boiss, *V. montana* (Vahl) Boiss.] (Egypte) ;

\* *C. rupestris* (Pomel) Brullo [= *Jasonia rupestris* Pomel] (Algérie, Maroc) ;

\* *C. saxatilis* (Lam.) Brullo [= *Jasonia saxatilis* (Lam.) Guss., *J. glutinosa* DC.] (L'Est-Sud Espagne, Majorque, Nord du Maroc.) ;

\* *C. sericeus* (Batt. & Trab.) Brullo [= *Jasonia sericea* Batt. & Trab., *Varthemia sericea* (Batt. & Trab.) Diels] (Sahara central: Tassili-n-Ajjer) ;

\* *C. lopadusanus* [= *Orsina camphorata* Bertol] (Lampedusa).

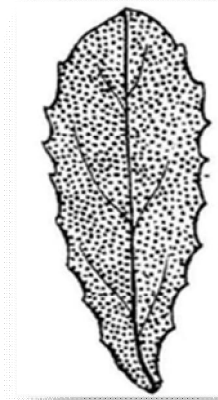
### **I-1-1- Description botanique de *Chiliadenus rupestris***

D'après **Quezel et Santa [3]**, il existe en Algérie une seule espèce : *Chiliadenus rupestris* Pomel (synonyme *Jasonia rupestris*). C'est une plante endémique du nord du Maroc et de l'ouest de l'Algérie (Tlemcen, Ghar Rouban, Maghnia, Monts de Ghazaouet) [8].

Toujours, d'après **Quezel et Santa [3]**, *C. rupestris* à des capitules hétérogames, multiflores et fleurs filiformes et stériles. Involucre à bractées plurisériées et imbriquées. Réceptacle plan, alvéolé ou fovéolé. Akènes cylindriques, atténués aux deux bouts, côtelés et à côtes nombreuses. Aigrette soit simple, soit double. Quand elle est double, l'extérieure est à poils très courts ; l'intérieure à poils longs un peu ciliés. Plante vivace à souche ligneuse, aromatique, toute couverte de glandes dorées. Tiges ligneuses, rigides, dressées et rameuses. Feuilles entières, sessiles, ovales ou elliptiques, penninervées, dentées, ondulées et petites. Capitules terminaux, de 1 cm, à fleurs pourpre pâle. Bractées de l'involucre inégales, les extérieurs noirâtres au sommet. Akènes des fleurs périphériques à aigrette appauvrie, simple ; ceux du disque velus à aigrette double (la partie intérieure constituée par 20-30 soies rousses deux fois aussi longues que l'akène) (**Fig. 2 et 3**).



**Fig. 2 :** Plante de *Chiliadenus rupestris* [9].



**Fig. 3 :** Feuille de *C. rupestris* [3].

### I-1-2- Classification de l'espèce *Chiliadenus rupestris*

Le tableau 1 : Classification de l'espèce *Chiliadenus rupestris*.

<b>Règne</b>	<b>Plante</b>
<b>Embranchement</b>	Trachéophyte
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Familles</b>	Asteraceae
<b>Tribu</b>	Inuleae
<b>Genre</b>	<i>Chiliadenus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Chiliadenus rupestris</i> (Brullo) Pomel.

### I-1-3- Utilisations traditionnelles et pharmacologiques

- Utilisations traditionnelles

En Espagne, *C. saxatilis* est utilisée dans le traitement des troubles de la digestion, de la diarrhée [10] et comme agent anti catarrhale, sédatif, diurétique et analgésique [11].

*C. montanus* est principalement utilisé pour réduire la fièvre, les maux de tête et contre la faiblesse [12]. Aussi, contre les maladies rénales et contre les symptômes de la grippe [12].

- Utilisations pharmacologiques

Le thé de Roca (*C. saxatilis*) a des propriétés anti-inflammatoires, antioxydants et antifongiques [13]. L'extrait de *C. saxatilis* a un effet relaxant et est utilisé dans la prévention de l'hypertension et d'autre maladie cardio-vasculaire [14].

Cette plante médicinale est prouvée pour être efficace pour les troubles neurologiques et mentaux avec infusion [15]. De nombreuses études sur *C. saxatilis* suggèrent que c'est une plante médicinale efficace pour la prévention et le traitement de divers troubles digestifs et peut être utilisé après leur validation pour améliorer les résultats de ces troubles [16].

L'extrait des parties aériennes de *C. montanus* peut avoir une valeur thérapeutique dans le cholestases biliaire [17]. L'extrait ethanologique de *C. montanus* a le potentielle comme agent présentatif pour le diabète 2 [18].

L'extrait de *C. iphionoides* augmente la sécrétion d'insuline voir l'absorption du glucose par les adipocytes et les myotubes squelettiques [19].

### **I-1-4- Etudes phytochimiques antérieures**

Le Kudtdiol a été isolé des parties ariennes sèches de *C. saxatilis* par chromatographie sur colonne [20]. Chez *C. saxatilis*, on a trouvé des sesquiterpénoïdes la lucinone et le glutinone [21].

Deux nouveaux alcools sesquiterpéniques ont été isolés à partir des parties aériennes de *C. saxatilis* et caractérisés par RMN 1D et 2D : (11 R) -Eudesma-4-ène-11,12-diol, (11 R) -Eudesmane-5 $\alpha$ , 11,12-triol [22].

Les huiles essentielles des feuilles de *C. saxatilis* obtenu par distillation à la vapeur et analysées par CG/SM, ont montré la présence de camphre (31,5%), bornéol (15,7%), oxyde de caryophyllène (11,4%), farnésol (8,6%) et bornyl formate (2,9%) [23].

Dans l'étude phytochimique de *C. saxatilis*, les chercheurs ont montré que cette plante contient des huiles essentielles et des flavonoïdes avec plusieurs activités biologiques comme (i) anti inflammatoire de la cyclooxygénase (COX) et la 5-lipoxygénase (5-LOX), (ii) anti-thromboxane et antimicrobienne [16].

L'extraction des feuilles (sèche et broyer) de *C. candicans* avec n-hexane-Et<sub>2</sub>O-MeOH a permis d'isoler sept nouveaux sesquiterpènes et lactones sesquiterpéniques [24].

De l'espèce *C. montanus*, ils ont isolés des flavonoïdes la quercétine, un éther méthylique de 6-hydroxykaempferol, et trois des éthers méthyliques de la quercétine [25]. Les parties aériennes de *C. montanus* contiennent un nouveau sesquiterpène le montanone [26]. D'autres extraits de *C. montanus*, ont montré la présence de jasonin-a, jasonin-b et jasonin-c. Ces composés se sont révélés hypoglycémians et antimicrobiens [27].

L'analyse de l'huile essentielle de *C. lopadusanus* par CG/SM a montré la présence des composés : camphre (55.19%), bornéol (6.75%) ; 1,8 cinéole (5.55%). Le thymol, carvacrol, pinocarveol, et menthadienol sont présents mais à des taux faibles [28]. Une autre étude a montré que les huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *C. lopadusanus* obtenues par hydrodistillation et analysées par CG/SM, contiennent du camphre (39.4%) dans les feuilles et (24.0%) dans les fleurs, suivi du torreyol (6.7%), du t-cadinol (5.2%) et du 1,8 cinéole (3.8%) dans les feuilles, alors que dans les fleurs on a du t-cadinol (15.2%), t-murolol (5.1%) et du torreyol (4.5%) [29].

### **I-2- *Thymus coloratus***

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées [30]. Il regroupe un grand nombre d'espèces, sous-espèces et variétés de plantes sauvages. Avec pour centre de diversité le bassin méditerranéen, les espèces de ce genre sont naturellement répandues dans toute l'Eurasie, une partie de l'Afrique du Nord ainsi qu'en Islande et sur la côte Groenlandaise (Fig.4).



**Fig. 4** : Aire de distribution des espèces du genre *Thymus* [31].

Le genre *Thymus* compte plus de 400 espèces dont 26 poussent en Algérie. Parmi elles, certaines sont endémiques de l'Algérie telles que *Thymus pallescens* de Noé, *Thymus dreatensis* Batt., *Thymus guyonii* de Noé et *Thymus lanceolatus* Desf.. D'autres sont endémiques du nord-africain comme *Thymus ciliatus* Desf., *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut., *Thymus numidicus* Poiret., *Thymus munbyanus* Boiss. et Reut. et *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. [32, 33, 34]. Le thym est une plante sous-ligneuse, odorante qui forme des touffes compactes très ramifiées qui s'élèvent à une vingtaine de centimètres au-dessus du sol. Il pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocaillieux et dans les garrigues. Les feuilles du thym sont plus ou moins contractées et les inflorescences sont en faux verticilles. Le calice quant à lui est tubuleux et la corolle est plus au moins exserte [3]. Toutes les espèces du genre *Thymus* produisent des huiles essentielles [35] et se caractérisent par une grande variabilité chimique [36].

Le thym est utilisé fréquemment par les populations grâce à ses diverses propriétés importantes. Il est utilisé dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats et recommandé contre tous les types de faiblesse. Il est indiqué pour les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions et les accidents articulaires [37]. Il est considéré aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires, rhume, grippe, cicatrisation et l'expulsion des gaz intestinaux [38].

L'huile essentielle de thym a un goût piquant, épicé et une odeur forte. Elle contient du thymol et du carvacrol à des proportions variables suivant l'origine de l'espèce. Selon le docteur [39], l'huile essentielle de thym tue le bacille de typhoïde en quelques minutes seulement.

En pharmacie, le thymol et le carvacrol sont employés en collutoires, dans les dentifrices, les savons, les onguents, les lotions, les pastilles pour la gorge et les remèdes antigrippes. Plusieurs études ont montré que le thymol possède de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antispasmodique, antimicrobienne, fongicide, insecticide, antioxydant, anti-cancérigène et anti-inflammatoire [40, 41].

### **I-2-1- Description botanique de *Thymus coloratus***

*Thymus ciliatus* (Desf) Benth. est une plante aromatique endémique qui se trouve à l'état spontané sous forme d'un sous-arbrisseau très ramifié à la base et très feuillu présentant un polymorphisme remarquable [32].

Ce thym peut atteindre 40 centimètres de hauteur, pouvant former des touffes bien étalées sur le sol. Les petites feuilles florales sont peu dilatées et opposées, sans stipules, courtement pétiolées, oblongues, glabres, mais généralement ciliées à la base et un peu enroulées sur les bords colorées [38]. Les feuilles sont sessiles, elliptiques, lancéolées. La tige généralement tétra-angulaire est très ramifiée et ligneuse en sa partie inférieure. Cette espèce pousse autour du bassin méditerranéen et dans le Nord de l'Algérie, au printemps qui se caractérise par des jours courts, un climat humide et une température moyenne [35]. Elle est rencontrée dans les pelouses, les broussailles, matorrals, sur substrats calcaires et siliceux et sur sols rocailloux [42], dans toutes les régions montagneuses [38].

Le *Thymus ciliatus* (**Fig. 5**) est rencontré sous la forme de trois ssp : la ssp *euciliatus* (**Fig. 6**), la ssp *coloratus* (**Fig. 7**) et la ssp *munbyanus* [35].





**Fig.5: *Thymus ciliatus***  
[43]



**Fig.6: *ssp euciliatus*** [43]



**Fig.7: *ssp coloratus*** [43]

- **Sous-espèce *coloratus***

La *ssp coloratus* (Boiss et Reut) Batt. est un sous arbrisseaux à capitule dense, gros et à feuilles florales plus ou moins tachées de pourpre au moins à la base. Les fleurs ne dépasse pas 7 à 8mm et sont en général plus pales [3, 35, 42].

- **Sous-espèce *euciliatus***

La *ssp euciliatus* Maire possède des fleurs très grandes rouges ou violacées dépassant < 1cm de long, les feuilles sont linéaires ciliées sur les marges, florales ovales et vertes, préfère les pelouses broussailles et il est répondu dans toutes l'Algérie [3, 35, 42].

- **Sous-espèce *munbyanus***

La *ssp munbyanus* (Boiss et Reut) Batt. est caractérisé par des feuilles florales vertes [35].

### I-2-2- Classification botanique

Le *Thymus coloratus* est classé comme suit : [20]

**Le tableau 2 :** Classification botanique de *thymus coloratus*.

<b>Règne</b>	<b>Plantae (végétal)</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes (phanérogames)
<b>Sous classe</b>	Métachlamydées (gamopétales)
<b>Ordre</b>	Tubiflorales
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Genre</b>	Thymus
<b>Espèce</b>	Ciliatus
<b>Sous-espèce</b>	<i>T. coloratus</i>

### I-2-3- Propriétés thérapeutiques

De nos jours, le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne. Ses feuilles sont riches en huiles essentielles dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie et en médecine, notamment : antiparasite, antispasmodique, antiseptique et digestif. Cela a été mentionné dans plusieurs études [44, 45, 46]. Il est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes : les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux ; en décoction pour guérir la migraine, l'hypertension et la gastrite ; en usage externe comme cicatrisant. Il possède des vertus antiseptiques utilisées pour soigner les infections pulmonaires [45, 47, 48]. *T. coloratus* représente une activité antioxydant due à la présence des flavonoïdes [42].

### I-2-4- Travaux antérieures sur la composition chimique de *T. coloratus*

En Algérie, il y a plusieurs espèces et sous espèces de *Thymus* dont chaque une a sa composition chimique et sa propre activité biologique.

D'après le **tableau 3**, les travaux réalisés sur l'HE de l'espèce *Thymus ciliatus*, ssp *eu-ciliatus* et la ssp *munbyanus*, ont montré la présence du thymol et du carvacrol comme composés majoritaires. La richesse de ces essences en thymol et carvacrol donnent une efficacité antimicrobienne et une efficacité antioxydante.

Pour la ssp *coloratus*, il n'y a aucune étude antérieure sur la composition chimique de l'HE de cette plante.

Tableau 3 : Travaux antérieures sur le genre *Thymus*

Genre	THYMUS		
	Huile essentielle	Activité Antibactérienne Activité Antioxydant	Réf
<i>ciliatus</i>	Etude du polymorphisme chimique dans le genre <i>Thymus</i> .		[49] [50]
	Etude de la composition chimique de l'HE de <i>T. ciliatus</i> de Terny et de Sidi-Djillali situées dans la Wilaya de Tlemcen. 07 composés ont été mis en évidence par l'analyse CCM et 13 composés par l'analyse CPG.		[51]
	Principalement des monoterpènes : thymol et carvacrol représentent les composés majoritaires du genre, suivi par le linalol, le p-cymène, le $\gamma$ -terpinène, le bornéol, le terpinène-4-ol et le 1, 8-cinéole.		[52]
	Principaux constituants chimiques de l'huile essentielle : <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ thymol (44,2 %)</li> <li>➤ <math>\beta</math>-E-ocimène (25,8 %)</li> <li>➤ <math>\alpha</math>-terpinène (12,3 %)</li> </ul>	Huile essentielle de <i>T. ciliatus</i> a montré une forte activité antibactérienne et antifongique, due principalement à la richesse de cette essence en thymol connu pour son efficacité contre les agents microbiens.	[53]

	<p>Principaux constituants chimique de l'huile essentielle de <i>Thymus ciliatus</i>, récoltée à Ain Mlila (Oum El Bouaghi).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ le thymol (54,98%)</li> <li>➤ <math>\gamma</math>-terpinène (11,33%)</li> <li>➤ p-cymène (6,66%)</li> <li>➤ le carvacrol (4,96%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Activité antibactérienne de l'huile essentielle a été testé contre les bactéries par l'utilisation de la méthode de diffusion sur disque.</li> <li>➤ Activité antioxydante a également été étudiée par l'utilisation de la méthode de blanchiment au <math>\beta</math>-carotène.</li> </ul>	<p>[54]</p>
	<p>Principaux composés de l'huile essentielle des parties aériennes fraîches de <i>Thymus ciliatus</i> qui se développe dans divers sols d'Algérie et le Maroc :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Carvacrol (0,2 à 80,3%)</li> <li>➤ p-Cymène (0,8 à 19,6%)</li> <li>➤ <math>\gamma</math>-Terpinène(0,2 à 14,6%)</li> <li>➤ Thymol (0,2 à 79,1%)</li> <li>➤ Camphre (7,5%)</li> <li>➤ <math>\alpha</math>-Pinène (8,7% à 12,3%)</li> </ul>		<p>[55]</p>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Trans-β-ocimène (25,8%)</li> <li>➤ Nérolidol (6,9%).</li> </ul>		
<i>Ciliatus</i>		<p>Huile essentielle de <i>Thymus ciliatus</i> est active sur les souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> productrices de VIM-2 carbapénèmases à une concentration minimale inhibitrice moyenne de 1,7 mg/ml. Parce que c'est une plante riche en HE phénoliques.</p>	[56]
<i>ssp eu-ciliatus</i>	<p><i>Thymus ciliatus ssp. eu-ciliatus</i> récolté dans l'ouest Algérien produit une huile essentielle dont la composition est :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Carvacrol (de 72,4 à 80,3%)</li> <li>➤ Thymol</li> <li>➤ γ-Terpinène (0,2 à 0,5 %)</li> <li>➤ Myrcene (1,1 à 2 %)</li> <li>➤ Linalool (0,6 à 1,5 %)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Huile essentielle indique une activité antimicrobienne.</li> </ul>	[35]

<p><i>ssp munbyanus</i></p>	<p>La composition chimique de <i>T.munbyanus</i> récoltée en Algérie</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ p-Cymène (8%)</li> <li>➤ Limonène (2%)</li> <li>➤ Thymol (2%)</li> <li>➤ <math>\gamma</math>-Terpinène (6%)</li> <li>➤ Carvacrol (71%)</li> </ul>	<p>➤ Activité antibactérienne de l'huile par la méthode de diffusion sur gélose contre <i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonella enterica</i> sérotype thyphimurium, <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline et <i>Listeria monocytogenes</i>.</p>	<p>[57]</p>
<p><i>ssp coloratus</i></p>	<p>Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de <i>Thymus ciliatus ssp. coloratus</i>.</p>		<p>[42, 58]</p>

## **II- Généralité sur les Huiles essentielles**

### **II-1-Aromathérapie**

L'aromathérapie se définit comme une méthode de traitement des maladies par les huiles essentielles (encore appelées huiles volatiles, essences, essences aromatiques, essences végétales).

Cette définition peut s'étendre aussi aux aromates c'est-à-dire à « « tout parfum d'origine végétal utilisé en médecine, en parfumerie ou en cuisine » » [59].

### **II-2-Définition de l'huile essentielle**

L'huile essentielle est définie comme l'extrait naturel de plantes ou d'arbres aromatiques. Le terme « « huile » » se rapportant au caractère visqueux et hydrophobe de ces substances et le terme « « essentielle » » se comprenant comme étant la caractéristique principale de la plante [60].

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation [61].

Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines [62].

### **II-4-Composition chimique**

Pour la Pharmacopée française, les huiles essentielles sont "des produits de composition généralement assez complexe renfermant plusieurs centaines de molécules chimiques différentes. Les plus fréquemment rencontrés sont les alcools (phénols et sesquiterpénols), les cétones, les aldéhydes terpéniques, les esters, les éthers, les terpènes et les oxydes. Ces principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation" [63].

### **II-5-Propriétés physico-chimiques des HE**

D'une manière générale, les propriétés et les caractéristiques d'une huile essentielle sont: les différents indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation [64].

Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 seul 03 huiles essentielles officinales ont une densité supérieur à celle de l'eau: ce sont



les huiles essentielles de Cannelle, de Giroflier, de Safran; Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation, ce sont des liquides à la température ordinaire [65].

### **II-6-Domains d'utilisations**

- **Phytothérapie**
- **Parfumerie et cosmétologie**

On utilise les huiles essentielles dans les crèmes, les gels à cause de leur activité antiseptique et antioxydant [66].

- **Industrie alimentaire**

On cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. Alors, Les plantes aromatiques et leur HE sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaires, Ils y sont rajoutés pour augmenter le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires [67].

Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires [68, 69].

### **II-7-Toxicité des huiles essentielles**

D'après la confédération de Suisse [70] :

- Certaines substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances de synthèse. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses comme la Cannelle de Ceylan, Basilic exotique, Menthe, Clou de girofle, Niaouli, Thym à thymol, Marjolaine, Sarriette, Lemon-grass.

- De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques [71].

- Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter en irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques.

- Une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut, selon la sorte et la quantité, générer une toxicité élevée voir un coma et même la mort.

### **II-8-Methodes d'extractions**

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles parmi :

#### **1-Extraction par entrainement à la vapeur**

Dans ce système l'extraction est basée sur l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur. L'essence est entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation [72].

#### **2-Extraction par hydrodistillation d'huile essentielle**

Dans le cas de l'hydrodistillation qui est la méthode la plus utilisée [73], l'hydrodistillation « *water distillation* » où le matériel végétal à extraire est en contact direct avec l'eau en ébullition, la vapeur d'eau produite entraîne avec elle les essences de la plante [74].

#### **3-Extraction par hydrodiffusion**

L'hydrodiffusion est une variante de l'entrainement à la vapeur d'eau. Dans le cas de l'hydrodiffusion le flux de la vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau-huile essentielle » dispersé dans la matière végétale [72].

**Matérielset**

**Méthodes**

**Matériel et méthodes :**

**1- Provenance du matériel végétal**

L'espèce *Chiliadenus rupestris* a été récoltée en période de pleine floraison dans la région de Maghnia, alors que l'espèce *Thymus coloratus* a été récoltée aussi en période de pleine floraison dans deux stations à « Bouhanak » et à « Lalla Seti » situées dans la wilaya de Tlemcen. La récolte des deux espèces a été réalisée à la fin du mois d'avril 2016. Après la récolte, le matériel végétal est identifié, nettoyé (débarrassé des débris) et étalé sur papier filtre puis laissé sécher à l'ombre et à l'air libre pendant trois jours. Une fois séché, le matériel est soumis à l'extraction (**tableau 4**).

**Tableau 4** : Les stations géographiques de récolte des plantes aromatiques situations géographiques et leurs étages bioclimatiques [75].

<b>Plantes</b>	<b>Stations de récolte</b>	<b>Partie de la plante</b>	<b>Etage bioclimatique</b>	<b>Altitude (m)</b>	<b>Pluviométrie (mm)</b>
<i>Thymus coloratus</i>	Lalla Seti	Feuilles et fleurs	Semi-aride tempéré	1190	400
	Bouhanak		Arde froid	600	577
<i>Chiliadenus rupestris</i>	Maghnia		Semi aride chaud	390	450

**2- Extraction de l'huile essentielle**

L'obtention de l'huile essentielle a été réalisée par l'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger sur la partie aérienne de la plante sèche pendant 3h. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal dans l'eau qui est portée à l'ébullition. Le dispositif utilisé est constitué d'un ballon en verre, placé au dessus d'un chauffe ballon, contenant de l'eau et le matériel à traiter, et surmonté d'une colonne à distiller en verre. Cette colonne est elle même reliée à un réfrigérant qui condense les vapeurs d'eau que l'on recueille sous forme de distillat dans une burette ou le volume est lu directement. Les huiles obtenues ont été déshydratées sur le sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>) et conservées à 4 °C et à l'abri de la lumière (**Fig. 8**).



**Fig. 8 :** Montage de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles.

### 2-1- Détermination de rendement

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse de matériel végétale à traité [76].

$$R^{dt} \% = m \times 10^2 / m_0$$

**m** : masse en gramme d'HE

**m<sub>0</sub>** : masse en gramme de matériel végétal traité.

### 3- Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

Les analyses GC ont été effectuées en utilisant un appareil Perkin Elmer GC Autosystem équipé d'un injecteur unique et de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID). L'appareil est doté de deux colonnes de silice fondue capillaires (60 m x 0,22 mm de diamètre, épaisseur de film 0,25 um) avec différentes phases stationnaires : Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et Rtx-Wax (polyéthylène glycol). Programme de température : 60-230 °C à 2 °C/min puis maintenus isotherme à 230 °C (30 min). Gaz vecteur : hélium (1 ml/min). Températures d'injecteur et du détecteur ont eu lieu à 280 °C. Injection a été réalisée avec un rapport de division de 1:80. Volume injecté : 0,1 µl.

Les analyses CG/SM ont été effectuées à l'aide d'un détecteur Perkin Elmer TurboMass, directement couplé à un XL Perkin Elmer Autosystem équipé de colonnes de silice fondue capillaires (60 m x 0,22 mm de diamètre, épaisseur du film 0,25 um), Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et Rtx-Wax (polyéthylène glycol). Autres conditions CG étaient les mêmes que décrit ci-dessus.

Les conditions de la CG/SM (IE) : température de la source d'ions : 150 °C ; énergie d'ionisation : 70 eV ; spectres électroniques de masse à ionisation ont été acquises sur la gamme de masse de 35 à 350 Da. Temps de numérisation : 1 s. L'injection a été réalisée avec un rapport de division de 1:80.

L'identification des composants est fondée : (i) la comparaison de leurs indices de rétention (RI GC) sur des colonnes apolaires et polaires, déterminée par rapport au temps de rétention d'une série de n-alcanes avec une interpolation linéaire, avec les composés authentiques ou des données de la littérature, et (ii) sur l'ordinateur correspondant à des bibliothèques spectrales de masses commerciales [77][78][79] et avec la comparaison des spectres avec ceux de notre bibliothèque personnelle. La quantité relative de chaque composant a été réalisée sur la base de leurs surfaces de pics sur les deux colonnes GC capillaires Rtx-1 et Rtx-Wax, sans correction du facteur de réponse du FID.

#### 4- Tests microbiologiques

##### 4-1- Provenance des souches testées

Les souches qui ont été testées sont des souches de références représentées dans le **tableau 5**.

**Tableau 5** : Les différents microorganismes testés.

		Souches	Origine
<b>Bactéries</b>	<b>Gram +</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> ( <b>Sa</b> ) ATCC 25923 <i>Bacillus cereus</i> ( <b>Bc</b> ) ATCC 11778 <i>Enterococcus faecalis</i> ( <b>Ef</b> ) ATCC 29212 <i>Bacillus subtilis</i> ( <b>Bs</b> ) ATCC 6633 <i>Listeria monocytogenes</i> ( <b>Lm</b> ) ATCC 19115	Laboratoire de microbiologie appliquée (LAMAABE)  Tlemcen
	<b>Gram -</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ( <b>Kp</b> ) ATCC 70603 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ( <b>Pa</b> ) ATCC 27853 <i>Echerichia coli</i> ( <b>Ec</b> ) ATCC 25922	
<b>Levures</b>		<i>Candida albicans</i> ( <b>Ca1</b> ) IPP 444	
		<i>Candida albicans</i> ( <b>Ca2</b> ) IPP 10231	
<b>Moisissure</b>		<i>Aspergillus flavus</i> ( <b>Af</b> ) 994224	

### 4-2- Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 4°C dans des tubes contenant des milieux de cultures inclinés spécifiques pour chaque groupe de microorganismes (Gélose Nutritive pour les bactéries, Sabouraud Dextrose Agar pour les levures et PDA acidifié pour les moisissures).

### 4-3- Les milieux de culture

- **Bactéries** : Bouillon Nutritif, Gélose Nutritive, Mueller Hinton, BHIB.
- **Levures** : Sabouraud liquide, Sabouraud Dextrose Agar + chloramphénicol.
- **Moisissures** : PDA acidifié (pH= 4.5)

### 4-4- Préparation des inoculums

#### ◆ Standardisation des inoculums

La standardisation de l'inoculum se fait à l'aide d'un colorimètre, des précultures sont faites sur bouillon nutritif (bactéries), Sabouraud liquide (levures). La lecture de la DO a été faite à 625 nm, soit une DO entre 0.08 et 0.1 correspond à  $10^8$  UFC/ml.

#### ◆ Précultures de la moisissure

Sur une boîte de pétri, contenant le PDA solide, on dépose un disque au centre de la boîte provenant d'une culture pure préparé au préalable puis on incube pendant 7 jours.

### 4-5- Méthodes d'évaluation du pouvoir antimicrobien

#### 4.5.1. Méthode de Vincent (Aromatogramme)

##### ✚ Essais antibactérien et anticandida

Cette dernière consiste à déposer les disques de papier Wattman de 6 mm imprégné de 5µl de l'huile essentielle à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé par écouvillonnage [80][81]. La lecture des résultats est réalisée par la mesure des diamètres des zones claires d'inhibition autour des disques en mm selon la fourchette proposé par [82] comme suit :

$\emptyset \leq 8\text{mm}$  : non sensible

$14 < \emptyset < 20\text{mm}$  : très sensible

$8\text{mm} < \emptyset \leq 14\text{mm}$  : sensible

$\emptyset \geq 20\text{mm}$  : extrêmement sensible

##### ✚ Essai antimosissure

L'effet antimoisissure a été réalisé avec 10, 50 et 100µl d'H.E. Les substances sont ajoutées à 20 ml du milieu P.D.A en surfusion et coulés immédiatement dans la boîte de Pétri. Après refroidissement, on dépose des disques de mycélium de 6 mm au centre de la boîte prélevé d'une culture de 7 jours puis incubé à 25°C pendant une semaine. Les résultats sont exprimés par la mesure des diamètres des zones de croissance de l'hyphe. La mesure de taux d'inhibition de la croissance mycélienne se traduit par l'application de la formule suivante [83].

$$I = \frac{D_b - D_a}{D_b} \times 100$$

Avec :

**I** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en %.

**Da** : Le diamètre de la colonie mycélienne dans l'expérience (mm).

**Db** : Le diamètre de témoin (mm).

### 4.5.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La CMI (concentration minimale inhibitrice) correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible du germe. Nous avons utilisé la méthode de microplaque à 96 puits à fond rond [84].

400µl de l'H.E sont mélangées avec 500µl de B.N. et du Tween 80 pour une concentration de 1% dans le but d'avoir une miscibilité totale de l'huile dans le bouillon. Une deuxième solution dite blanche a été préparée avec le bouillon Müller-Hinton et le Tween 80 avec une même concentration de 1%. Cette solution a été utilisée pour compléter les dilutions successives de la première solution qui contiennent l'huile essentielle et afin que la concentration de Tween 80 reste la même à 1% dans les différentes concentrations préparées. Préparer des dilutions décroissantes à raison de 1/2 afin d'obtenir des concentrations de 400µl/ml jusqu'à 0,35µl/ml (**Fig. 9**).



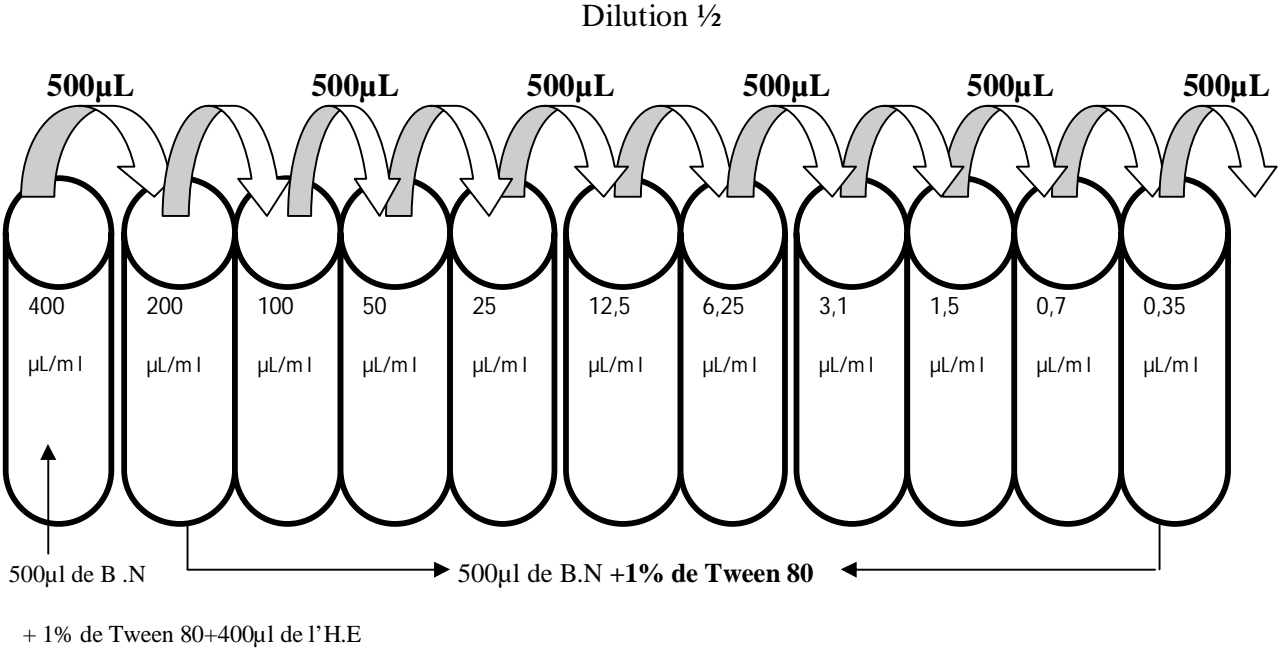
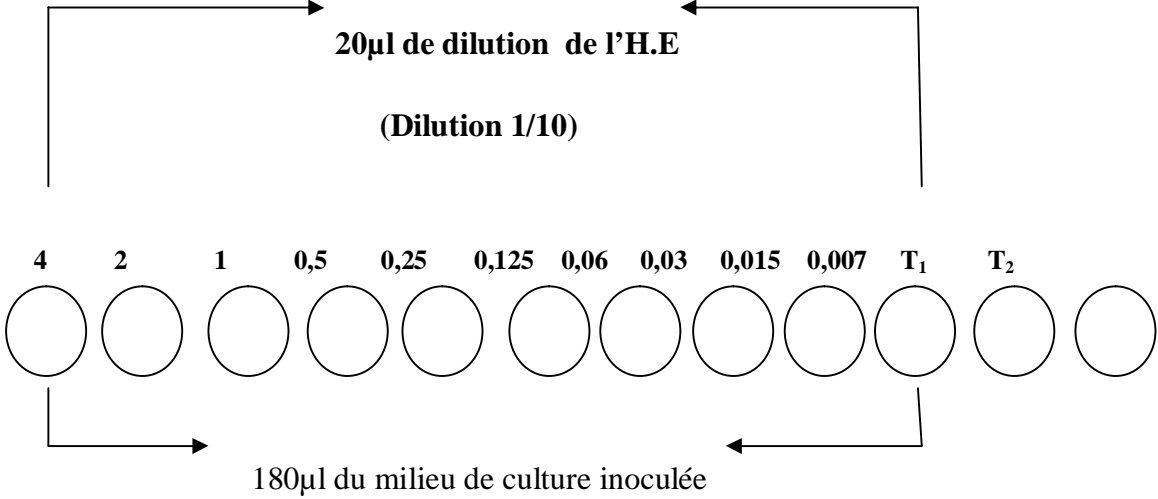


Fig. 9 : Schéma de préparation des dilutions de l'huile essentielle.

Pour la préparation de la microplaque (voir la fig. 10). L'inoculum est préparé comme ci-dessus, mais avec une concentration de 10<sup>5</sup> UFC/ml.



T<sub>1</sub> : témoin négatif ; T<sub>2</sub> : témoin positif

Fig. 10: Schéma de la méthode de microplaque.

### 4.5.3. Antibiogramme

Nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme selon les recommandations du [85]. Les ATB utilisés sont résumés dans le **tableau 6**.

**Tableau 6** : Les antibiotiques utilisés

Souches	Antibiotiques	Symbole	Charge du disque
Bactéries	Gentamycine	GEN	11 µg
Levure	Amphotéricine B	AmB	100 µg
Moisissure	Econazol	EC	50µg

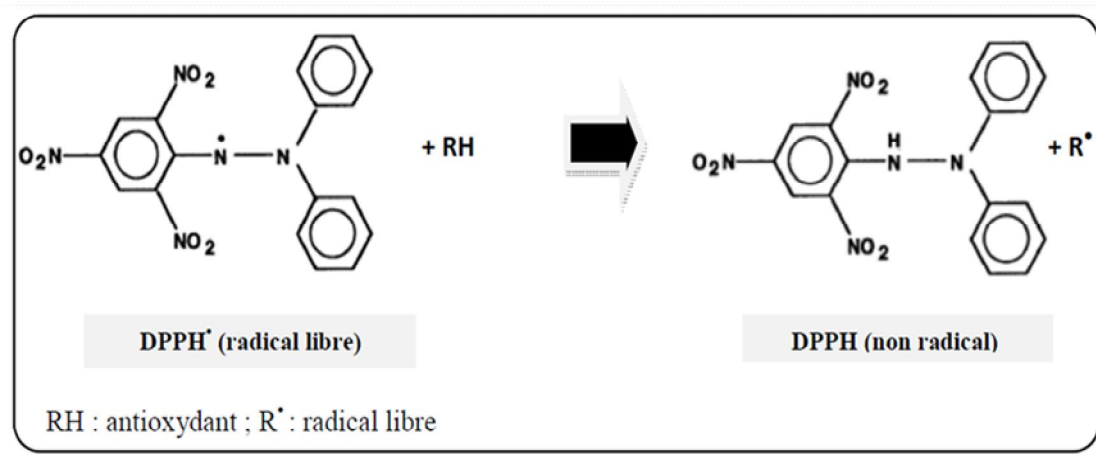
## 5- Pouvoir antioxydant

Nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) pour déterminer le pouvoir antioxydant selon le protocole de [86].

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•) est un radical organique stable, coloré et centré sur l'azote. Le maximum de son absorption se situe vers 517 nm dans le méthanol et l'éthanol [87].

Les antioxydants donateurs d'atome H (RH) sont capables de réduire le DPPH•, ce qui conduit au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R•.

Le DPPH• a une couleur violette mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux et devient jaune (**Fig. 11**).



**Fig. 11** : Réaction du DPPH<sup>•</sup> avec un antioxydant [88].

**Technique** : On ajoute 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l) sur cinquante microlitres de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations ou de standard (acide ascorbique),

La lecture de l'absorbance se fait par rapport à un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Le control positif « « solution d'un antioxydant standard » » : c'est l'absorbance de l'acide ascorbique qui a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante:

$$\% = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{Echantillon}}) / Abs_{\text{contrôle}}] \times 100$$

**A<sub>control</sub>** : Absorbance du contrôle.

**A<sub>Echantillon</sub>**: Absorbance de l'échantillon testé.

Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC50 qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH [89].

Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées.

### 6-Pouvoir hémolytique (test de cytotoxicité)

Pour évaluer la toxicité des huiles, nous avons utilisé le modèle universel, les globules rouges provenant d'un donneur unique sain.

**Technique :** Du sang fraîchement prélevé sur un tube sec est centrifugé à 4000 tours/ minutes à 4 °C pendant 5 minutes à l'aide d'une centrifugeuse type Eppendorf Centrifuge 5804R. Après élimination du surnageant, le culot est lavé 2 fois avec le tampon phosphate de sodium salé (PBS) 10 mM, pH 7,4. Les globules rouges sont suspendus dans le tampon phosphate salé (PBS) 10 mM, pH 7,4 à raison de 4000 cellules/ml (0,25 ml sont mis en contact avec 4,75 ml de tampon phosphate salé de sodium (PBS) 10 mM, pH 7,4). La suspension érythrocytaire à 5% est incubée (dans un incubateur de paillasse type WiseBath) à 37 °c pendant 60 min avec différentes concentrations des extraits solubilisés dans du DMSO (1%). Des prélèvements de 0,5 ml sont réalisés toutes les 15 min pour être re-suspendus dans 2,5 ml d'une solution de lavage glacée de  $MgCl_2$  2 mM et NaCl 10 mM. Les tubes sont centrifugés à 4000 tours/ minutes pendant 5 min. Le surnageant est utilisé pour suivre la fuite de l'hémoglobine intracellulaire par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'un photocalorimètre de type Fisher Scientific.

Pour chaque échantillon le pourcentage de l'activité hémolytique maximale est déterminé par l'équation [90]:

$$\text{Taux d'hémolyse (\%)} = 100\% \times \frac{(A_{540} \text{ nm de l'échantillon} - A_{540} \text{ nm de contrôle négatif})}{A_{540} \text{ contrôle positif}}$$

# **Résultats et discussion**

Résultats et discussion

1-Calcul de rendement en huile essentielle

Les rendements en HE des deux espèces de plantes sont consignés dans le **tableau 7**.

**Tableau 7 :** Teneurs en huiles essentielles obtenues par hydrodistillation de *Chiliadenus rupestris* et *Thymus coloratus*

Espèces	Origine	Partie utilisée	R <sup>ment</sup> en %
<i>Chiliadenus rupestris</i>	Maghnia	Feuilles et fleurs	0,26
<i>Thymus coloratus</i>	Lala Seti	Feuilles	0,34
		Fleurs	1,00
	Bouhanek	Feuilles et fleurs	1,15

D’après le **tableau 7**, on remarque que le rendement en H.E de *Chiliadenus rupestris* est de 0,26 %. Par contre le rendement en H.E de *Thymus coloratus* est compris entre 0,34 % à 1,15 %.

On note aussi, que le rendement par organe de thym, que les fleurs sont plus riches en H.E (1%) que les feuilles (0.34 %). Alors que par station, l’échantillon de Lala Seti a donné un rendement en HE (1,34%) supérieure à celui de Bouhanek (1,15%).

Au vu de la bibliographie, il n’y a pas de travaux réalisés sur la composition chimique des HEs des deux espèces étudiées. Mais en comparaison avec d’autres espèces du même genre (**tableau 8**), nous remarquons que les rendements des sous espèces de *Ciliatus* (*T. eu-ciliatus* et *T. mubyanus*) sont plus riches en HE que l’espèce *T. coloratus*.

**Tableau 8 :** Tableau comparatif des teneurs en HE des espèces de *Chiliadenus* et de *Thymus*

Espèces	R <sup>ments</sup> (%)	Sources bibliographiques
<i>Chiliadenus rupestris</i>	0,26 (Maghnia)	Nos résultats
<i>Thymus coloratus</i>	1,34 (Lala Seti) 1,15 (Bouhenak)	
<i>Thymus eu-ciliatus</i>	3.0-5.1% (Tlemcen)	[35]
<i>Thymus mubyanus</i>	3% (v/w: Hennaia)	[57]

Cette différence entre les rendements d'extraction obtenus pour les différentes espèces est due aux facteurs climatiques (chaleur, froid), géographiques (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et la nature des plantes aromatiques.

## 2-Analyse des huiles essentielles

Les résultats de l'analyse des HE des parties aériennes (feuilles et fleurs) de *C. rupestris* et de *T. coloratus* sont représentés dans le **tableau 9** et illustrés par les chromatogrammes (voir **Annexe 1: Fig. 12 et 13**).

**Tableau 9 :** Composition chimique partielle (%) des huiles essentielles de *C. rupestris* et *T. coloratus* obtenues par hydrodistillation.

Composés	Ir <sub>a</sub>	Ir <sub>p</sub>	<i>C. rupestris</i>	<i>T. coloratus</i>
α-Pinene	931	1022	0.1	<b>4.4</b>
Camphene	943	1066	0.2	<b>9.6</b>
1-Octen-3-ol	959	1446	-	1.2
Sabinene	966	1120	-	1.2
β-Pinene	970	1110	0.1	2.9
Myrcene	979	1159	0.2	<b>8.3</b>
<i>p</i> -Cymene	1011	1268	0.2	<b>3.2</b>
Limonene +1,8-cineole	1021	1212	0.2	<b>13.0</b>
γ-Terpinene	1047	1243	-	1.4
<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1051	1451	0.1	<b>2.6</b>
Linalool	1081	1544	0.4	0.2
Camphre	1125	1517	1.0	<b>20.7</b>
Borneol	1148	1698	<b>31.2</b>	<b>9.4</b>
Terpinen-4-ol	1161	1600	-	1.0
α-Terpineol	1172	1697	1.0	0.8
Bornyl acétate	1269	1515	<b>3.0</b>	0.1
Carvacrol	1278	2219	-	1.2
D- germacrène			1.0	-
Cadinène			1.0	-
Nérolidol			<b>4.1</b>	-
β-Bisabolene	1500	1720	-	1.8
Caryophyllene oxide	1576	1980	0.5	-
Bisabolol			1.2	

Ir<sub>a</sub> : Indice de rétention sur colonne apolaire, Ir<sub>p</sub> : Indice de rétention sur colonne polaire

Tr : traces ; - : Absence

Selon le **tableau 9**, l'analyse partielle des deux huiles essentielles de *Chiliadenus rupestris* et *Thymus coloratus* par CPG et CPG/SM a permis l'identification de 23 composés représentant 46,8% de la composition totale de l'huile essentielle de *Chiliadenus rupestris*, et l'identification de

29 composés représentant 87,7% de la composition totale de l'huile essentielle de *Thymus coloratus*.

### \*Pour l'H.E de *Chiliadenus rupestris*

Les composés majoritaires de l'H.E de *Chiliadenus rupestris* sont bornéol (31,2%), nérolidol (4,1%) et bornyl acétate (3,0%). C'est une huile riche en monoterpènes oxygénés.

En comparant nos résultats avec ceux d'autres espèces appartenant au genre *Chiliadenus*, on remarque que l'HE de l'espèce *C. rupestris* est plus riche en bornéol, alors que l'analyse d'H.E d'autres espèces d'origine espagnole à révélée comme composés majoritaires pour *C. saxatilis* : camphre (30-40%), bornéol (15-20 %), caryophyllène oxyde (11.4 %) [10] et pour *C. lopadusanus* : camphre (55.19%), bornéol (6.75%) et 1.8 cinéol (5.55%) [28].

### \*Pour l'H.E du *Thymus coloratus*

Les composés majoritaires de l'H.E du *Thymus coloratus* sont le camphre (20,7%), limonène + 1.8 cinéole (13%), camphène (9,6%), bornéol (9,4%),  $\alpha$  pinène (4,4%) et p-cymène (3,2%). L'huile est caractérisée par une forte teneur en monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés.

L'analyse comparative des HE d'autres espèces de même genre à révélée que l'H.E de *T. coloratus* présente comme composé majoritaire le camphre alors que les sous espèces *T. eu-ciliatus* et *T. mumbyanus* contiennent comme composé majoritaire le carvacrol [35][57] (72,4% à 80% et 71% respectivement).

## 3- Résultats de l'activité antimicrobienne

### 3-1- Sensibilités des bactéries et levures aux H.E de *C. rupestris* et *T. coloratus*

Les résultats des zones d'inhibitions sont donnés dans le **tableau 10** et illustrés par les **figures 14 et 15** (voir **annexe 2**).



**Tableau 10:** Diamètres (en mm) des zones d'inhibition de l'effet des huiles essentielles de *C. rupestris* et de *T. coloratus* et des antibiotiques vis-à-vis des bactéries et levures.

Microorganismes	Ø d'inhibitions (mm)			
	<i>C. rupestris</i>	<i>T. coloratus</i>	<i>Gen</i>	<i>AmB</i>
<i>Sa</i> ATCC 25923	12	9	20	-
<i>Bc</i> ATCC 11778	6	6	21	-
<i>Lm</i> ATCC 19115	16	12	19	-
<i>Ef</i> ATCC 29212	12	14	11	-
<i>Kp</i> ATCC 70603	6	6	6	-
<i>Bs</i> ATCC 6633	6	6	19	-
<i>Pa</i> ATCC 27853	6	6	17	-
<i>Ec</i> ATCC 25922	6	8	16	-
<i>Ca1</i> IPP 444	8	9	-	20
<i>Ca2</i> ATCC 10231	8	9	-	23

**Bactéries :** *Staphylococcus aureus* (*Sa*) ATCC 25923, *Bacillus cereus* (*Bc*) ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* (*Ef*) ATCC 29212, *Bacillus subtilis* (*Bs*) ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* (*Lm*) ATCC 19115, *Klebsiella pneumoniae* (*Kp*) ATCC 70603, *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) ATCC 27853, *Escherichia coli* (*Ec*) ATCC 25922.

**Levures :** *Candida albicans* (*Ca1*) IPP 444, *Candida albicans* (*Ca2*) IPP 10231.

**ATB :** **Gen** : gentamicine ; **AmB** : Amphotéricine B.

D'après le **tableau 10** ci-dessus, et selon [82] nous constatons que l'H.E de *C. rupestris* est active sur les souches *Sa*, *Lm* et *Ef* avec des diamètres d'inhibition de 12 mm, 16 mm et 12 mm respectivement. Par contre l'H.E de *T. coloratus* est active sur les souches *Lm* et *Ef* avec des diamètres d'inhibition de 12 mm et 14 mm respectivement. Par contre, les autres souches n'ont pas montré de sensibilité vis-à-vis des deux H.E. Les antibiotiques sont plus actifs sur les souches que les deux HE.

D'après les travaux de **Tefiani** sur le *T. mumbyanus* d'origine de Tlemcen, l'huile est active sur *Ec*, *Lm* et *Sa* avec des zone d'inhibition de 14,67mm, 13-22,50mm et 13,83mm respectivement [57].

### 3-2- Sensibilité d'*Aspergillus flavus* aux HE

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Elle se traduit par un halo translucide autour du disque identique à la gélose stérile [91].

Les résultats de l'activité anti-moisissure des deux H.E sur *Aspergillus flavus* (Af) 994224 sont présentés dans le **tableau 11** (voir **annexe 2 : Fig. 16 et 17**).

**Tableau 11 :** Diamètre de croissance mycélien (en mm) et taux d'inhibition I (en%) *Aspergillus flavus* (Af) 994224 en fonction de différentes concentrations d'huiles essentielles de *C. rupestris* et de *T. coloratus*.

Quantité d'huile essentielle	<i>Thymus coloratus</i> Φ (mm)	I(%)	<i>Chiliadenus rupestris</i> Φ (mm)	I (%)	Econasol (50µg) Φ (mm)	I (%)
100µl	6	92.5	17	78.75	25	68.75
50µl	13	83.75	22	72.5		
10µl	50	37.5	31	61.25		

Les résultats du **tableau 11**, indiquent qu'*A. flavus* est sensible selon la quantité d'HE déposée dans le milieu. Avec 100 µl d'HE de *T. coloratus*, on a une croissance de 6 mm soit une inhibition de 92,5%, alors qu'avec 100 µl d'HE de *C. rupestris* on a une croissance de 17mm soit un taux d'inhibition de 78,75%. Même avec 50 µl, on a des taux d'inhibitions importants.

D'après les résultats antimicrobiens, les huiles essentielles de *C. rupestris* et de *T. coloratus* sont beaucoup plus antimoississures que antibactériens et anticandida. Cependant, c'est une modeste activité comparé à l'activité de *T. eu-ciliatus* et *T. mumbyanus* [35][57].

### 3-3- Résultats de la CMI

Les résultats sont résumés dans le **tableau 12**.

**Tableau 12** : Résultats de l'activité antimicrobienne des HE de *C. rupestris* et *T. coloratus* exprimés par CMI ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Microorganismes	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	HE		ATB		
	<i>C. rupestris</i>	<i>T. coloratus</i>	Gen	AmB	En
<i>Sa</i> ATCC 25923	1625	1625	4	-	-
<i>Bc</i> ATCC 11778	-	-	2	-	-
<i>Lm</i> ATCC 19115	1125	1125	2	-	-
<i>Ef</i> ATCC 29212	1125	1125	2	-	-
<i>Kp</i> ATCC 70603	-	-	4	-	-
<i>Bs</i> ATCC 6633	-	-	4	-	-
<i>Pa</i> ATCC 27853	-	-	2	-	-
<i>Ec</i> ATCC 25922	-	-	4	-	-
<i>Ca1</i> IPP 444	> 2000	> 2000	4	1	-
<i>Ca2</i> ATCC 10231	> 2000	> 2000	4	1	-
<i>Af</i> ATCC 994224	625	500	-	-	3

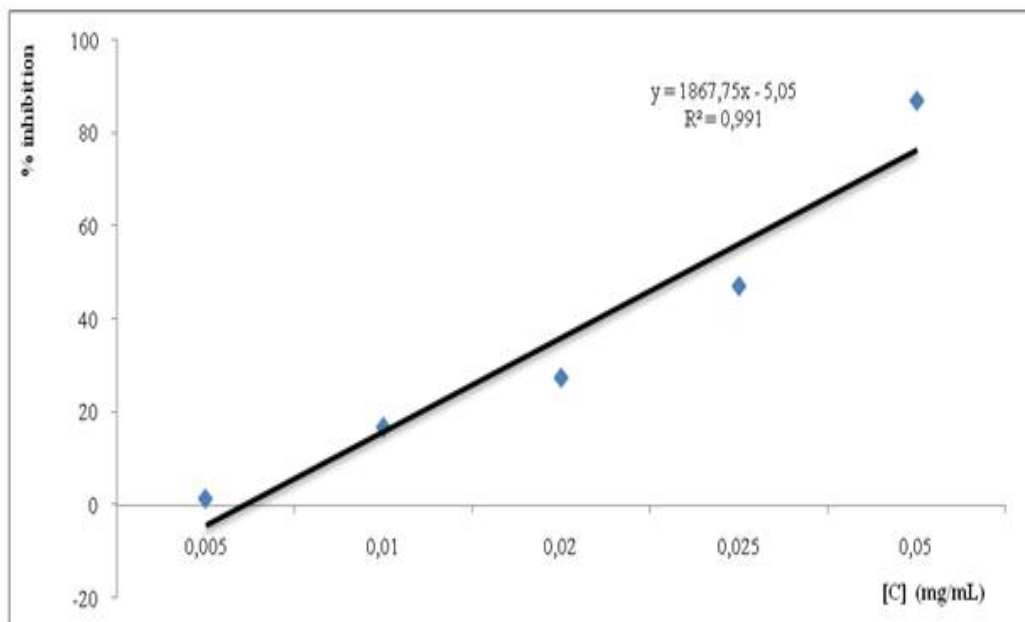
De point de vu CMI, les souches *Kp*, *Bs*, *Pa* et *Ec* sont très résistantes aux deux HE. La plus grande activité est enregistrée contre *Af* avec une CMI de 500  $\mu\text{g/mL}$  pour l'HE de *Thymus* et 625 $\mu\text{g/mL}$  pour l'HE de *Chiliadenus*.

En comparaison avec les travaux antérieurs, les HE étudiées sont peu actives sur les microorganismes puisque l'HE de *T. eu-ciliatus* inhibe *Sa*, *Ec*, *Pa* et *Ca* à des CMI < 1000  $\mu\text{g/mL}$ . En effet, ces dernières sont très riches en carvacrol (composé phénolique connu pour son pouvoir antimicrobien élevé) alors que les HE de *C. rupestris* et *T. coloratus* contiennent le bornéol et le camphre comme composés majoritaires (actifs sur les microorganismes mais pas autant que les composés phénoliques) respectivement [35].

#### 4- Résultats de l'activité antiradicalaire

L'activité antioxydante des différentes HE vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm. L'activité antioxydante des différentes HE est comparée à l'activité de l'acide ascorbique et du BHT.

Les mesures effectuées à différentes concentrations des HE de *C. rupestris* et *T. coloratus* sont présentés dans les **tableaux 13** et **14** (voir **annexe 3**) et illustrées par les **figures 18, 19, 20**.



**Fig. 18:** Pourcentage d'inhibition par l'acide ascorbique.

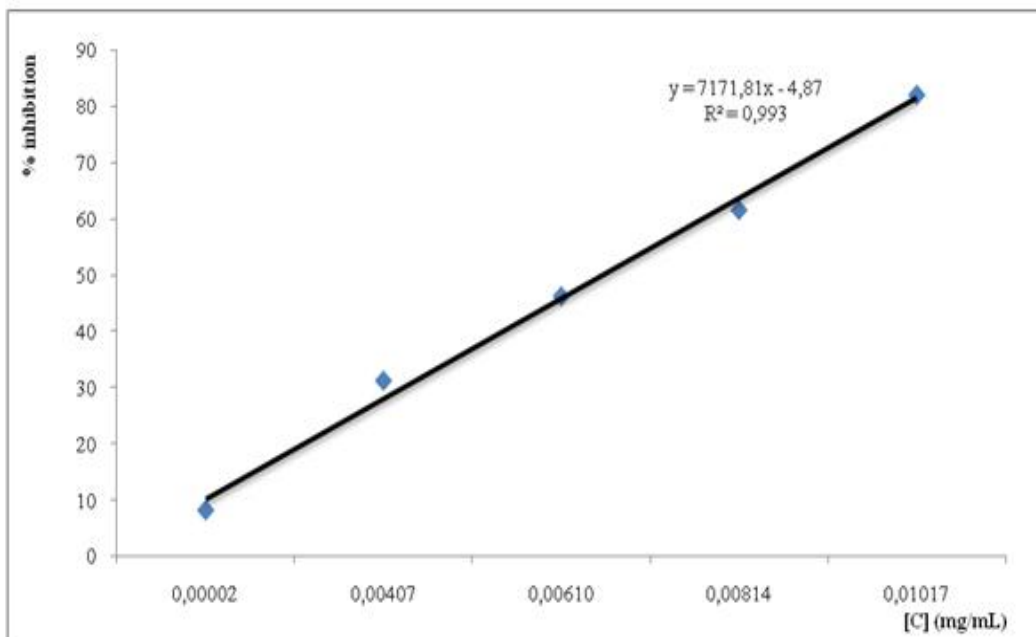


Fig. 19 : Pourcentage d'inhibition par le BHT.

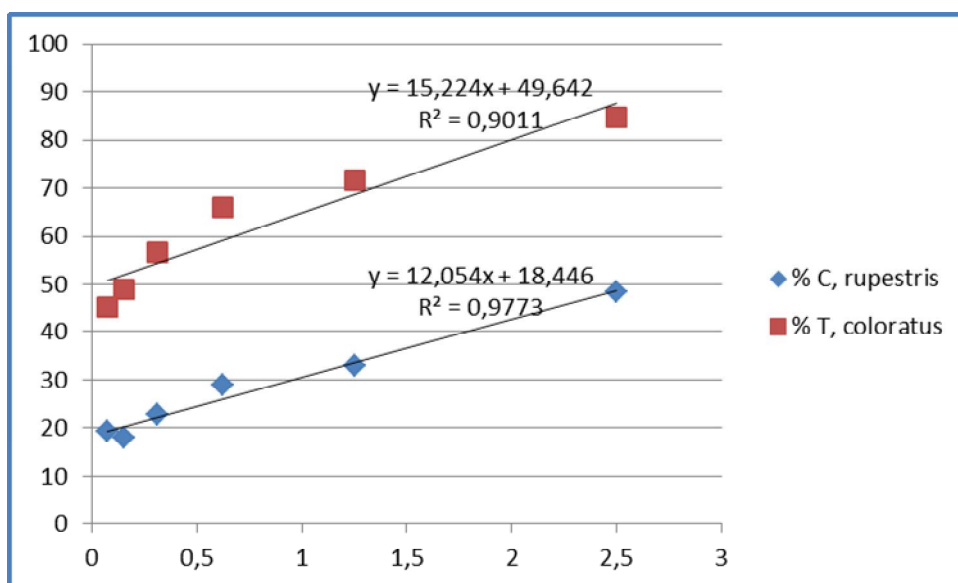


Fig. 20 : Pourcentage d'inhibition par l'HE de *C. rupestris* et du *T. coloratus*

Les résultats d'IC50 des H.E de *C. rupestris*, *T. coloratus*, acide ascorbique et BHT sont présentés dans le **tableau 15**.

**Tableau 15 :** IC50 des HE étudiées, du BHT et de l'acide ascorbique.

	H.E de <i>C. rupestris</i> .	H.E de <i>T. coloratus</i> .	A. ascorbique	BHT
<b>IC50 (mg/ml)</b>	2.624	0.023	0.024	0.0063

D'après le tableau 15, on remarque que l'HE de *T. coloratus* présente la même activité antiradicalaire que la vitamine C soit un IC50 de 0,023 mg/ml et 0,024 mg/ml respectivement. Le BHT reste le produit le plus antiradicalaire. Selon le pouvoir de chaque produit, on peut les classés dans l'ordre décroissant :

BHT > HE *T. coloratus* > A. ascorbique > HE *C. rupestris*.

Les travaux de **Tefiani** ont montré que l'H.E du *T. mumbyanus* a une bonne activité antioxydante avec IC50= 444,7 µg/ml [57].

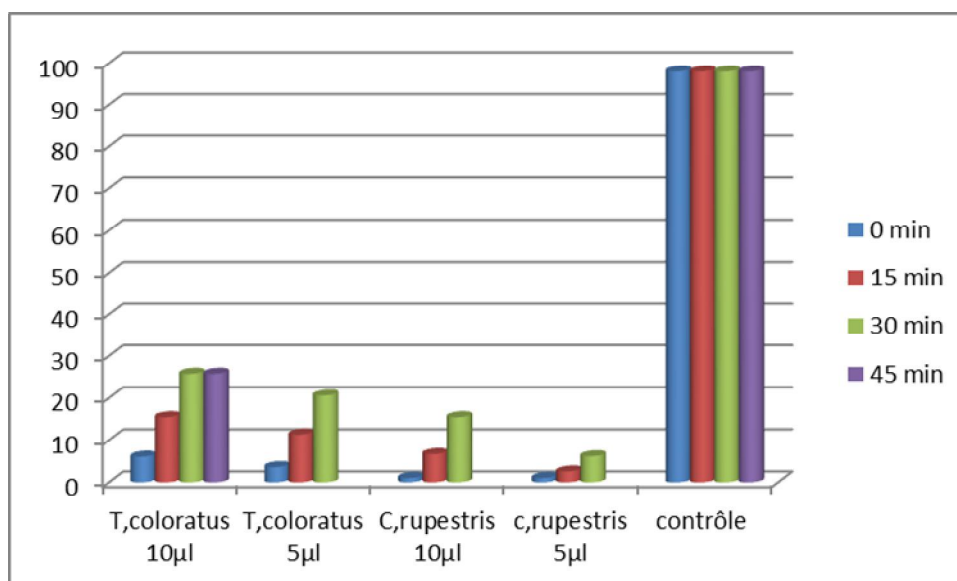
### 5- Résultats du pouvoir hémolytique

Les résultats du taux hémolytique des deux HE *C. rupestris* et *T. coloratus* à différentes temps pendant 60 mn sont représentés dans le **tableau 16** et illustré par la **figure 21**.

**Tableau 16 :** Les taux hémolytiques (en %) des HE de *C. rupestris* et *T. coloatus* en fonction de temps.

HE	Temps (mn)	t <sub>0</sub>	t <sub>15</sub>	t <sub>30</sub>	t <sub>45</sub>	Contrôle (H <sub>2</sub> OD)
	Quantité huile					
<i>T. coloratus</i>	10 µl	6.701	15.46	25.77	25.77	98%
	5 µl	3.608	11.340	20.61	—	
<i>C. rupestris</i>	10 µl	1.030	6.701	15.46	-	
	5 µl	1.030	2.577	6.185	-	

H<sub>2</sub>OD : eau distillée



**Fig. 21 :** Taux hémolytique des deux H.E *C. rupestris* et *T. coloratus*.

D'après la **Fig. 21**, on constate que le taux hémolytique augmente avec la quantité d'HE. Après 30 mn d'exposition des globules rouges aux HE, le taux d'inhibition atteint 20,61% avec 5 µl d'HE de *T. coloratus* et 6,18 % avec la même quantité d'HE pour *C. rupestris*.

On remarque que malgré les quantités faibles d'H.E appliquées, l'effet hémolytique est obtenu dès le début de la réaction et augmente avec le temps. Les HE sont connus pour leurs effets caustiques, en provoquant des irritations, des allergies et des dommages cellulaires [74]. C'est pour quoi il est déconseillé d'utiliser par voie interne des H.E pures.

# **Conclusion générale**



## Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Le présent travail porte sur la composition chimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant, antibactérien et hémolytique de deux huiles essentielles : *Thymus ciliatus sspcoloratus* et *Chiliadenus rupestris*, deux plantes endémiques de l'Algérie.

L'extraction des deux huiles essentielles par hydrodistillation, a montré que le rendement en huile de *Chiliadenus rupestris* est de 0.26% alors que celui de *Thymus coloratus* est de 1.15 %.

L'analyse chimique par CPG et CPG/SM, a révélé que l'HE de *Chiliadenus rupestris* est riche en monoterpènes oxygénés dont le bornéol est le composé majoritaire avec 31,2%. Par contre l'HE de *Thymus coloratus* est riche en monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés dont le composé majoritaire est le camphre avec 20,7%.

L'activité antimicrobienne des deux HE, a montré qu'elles ont une modeste activité anti moisissure que antibactérien et anticandida.

L'étude du pouvoir antiradicalaire, a montré que l'HE de *T. coloratus* possède une bonne activité que l'HE de *C. rupestris* avec IC50 de 0,023 mg/ml et 2,624 mg/ml respectivement

Pour l'activité hémolytique, l'HE de *Thymus* a provoqué 20,61% d'hémolyse alors que l'HE de *Chiliadenus* a lysée 6,18% de globules rouges avec 5 µl et après 30 min de réaction.

Au vu de ces résultats ci-dessus, la composition chimique et les propriétés biologiques des deux huiles essentielles de *T. coloratus* et *C. rupestris* ont été effectués pour la première fois. Ce travail n'est pas fini, mais d'autres travaux sont en cours pour approfondir la composition chimique et évaluer d'autres propriétés biologiques.

# **Références bibliographiques**

### Références

- [1] Gurib-Fakim, Ameenah. “Medicinal Plants: Traditions of Yesterday and Drugs of Tomorrow.” *Molecular Aspects of Medicine* 27, no. 1 (2006): 1–93.
- [2] Hamburger, Matthias, and K Hostettmann. “Bioactivity in Plants: The Link between Phytochemistry and Medicine.” *Phytochemistry* 30, no. 12 (1991): 3864–3874.
- [3] Quezel, P, and S Santa. *Nouvelle Flore de L’Algérie et Des Régions Désertiques Méridionale*. Centre national de la recherche scientifique. France -Paris, 1963.
- [4] Manuel, P, and R Morales. “Consideraciones sobre el género *Jasonia* (Compositae, Inuleae). sistematica y Usos.” *JAacstoan Biotanica Malacitana* 29 (2004): 121–232.
- [5] Arne, A, and Anderberg. “Taxonomy and Phylogeny of the Tribu Inuleae (Asteraceae).” *Plant Systematics and Evolution*, 1990, 75–123.
- [6] Salvator, B. “Taxonomi and Nomenclatural Notes on the Genera *Jasonia* Cass, and *Chiliadenus* Cass. (Compositae).” *Plant Taxonomy and Geography* 34, no. 1 (1979): 289–308.
- [7] Index Syn. Fl. Afrique N. 2: 230 (2011).
- [8] Radford, E.A., G. Catullo, and B. Montmollin. *Zones Importantes Pour Les Plantes En Méditerranée Méridionale et Orientale*, 2011.
- [9] <https://science.mnhn.fr/institution/mnhn/collection/p/item/p00390816>.
- [10] Valero, S Marta, and E Langa. “*Jasonia glutinosa* D.C (‘Rock Tea’): Botanical, Phytochemical and Pharmacological Aspects.” *Bol. Latinoam. Caribe Plantas Med. Aromát* 12, no. 6 (2013): 543–557.
- [11] Manuel, P, E Blanco, and R Morales. “Plants Known as T’e in Spain: An Ethno-Pharmacobotanical Review.” *Ethnopharmacology* 98 (2005): 1–19.
- [12] Maha, M, and Z Adel Kamal. “Antiviral Screening of Forty-Two Egyptian Medicinal Plants.” *Ethnopharmacology*, 126 (2008): 102–107.
- [13] V’ictor, L, S Akerreta, and E Casanova. “Screening of Spanish Medicinal Plants for Antioxidant and Antifungal Activities.” *Pharmaceutical Biology* 46, no. 9 (2008): 602–609.

- [14] Marta, S, Viguera Aida Oliván, and E Langa. “Rock Tea Extract (*Jasonia Glutinosa*) Relaxes Rat Aortic Smooth Muscle by Inhibition of L-Type Ca<sup>2+</sup> Channels.” *Physiology and Biochemistry* 71, no. 04 (2015): 785–793.
- [15] Calvo, M, and R Yolanda Caverro. “Medicinal Plants Used for Neurological and Mental Disorders in Navarra and Their Validation from Official Sources.” *Journal of Ethnopharmacology* 169 (July 1, 2015): 263–68. doi:10.1016/j.jep.2015.04.035.
- [16] Calvo, M, S Akerreta, and R Yolanda Caverro. “The Pharmacological Validation of Medicinal Plants Used for Digestive Problems in Navarra, Spain.” *European Journal of Integrative Medicine* 5, no. 6 (December 2013): 537–546. doi:10.1016/j.eujim.2013.07.002.
- [17] Hussein, M, and Soad Gawad. “Protective Effect of *Jasonia Montana* against Ethinylestradiol-Induced Cholestasis in Rats.” *Saudi Pharmaceutical* 18, no. 1 (January 2010): 27–33. doi:10.1016/j.jsps.2009.12.002.
- [18] Hussein, M. “Anti-Obesity, Antiatherogenic, Anti-Diabetic and Antioxidant Activities of *J. Montana* Ethanolic Formulation in Obese Diabetic Rats Fed High-Fat Diet.” *Free Radicals and Antioxidants* 1, no. 1 (January 2011): 49–60. doi:10.5530/ax.2011.1.9.
- [19] Gorelick, J, and A Kitron. “Anti-Diabetic Activity of *Chiliadenus Iphionoides*.” *Ethnopharmacology*, 137 (2011): 1245–1249.
- [20] Pascual Teresa, J, A.F Barrero, and A San Feliciano. “Kudtdiol, New Sesquiterpene Alcohol from *Jasonia Glutinosa* D.C.” *Tetrahedron Letters* 19, no. 43 (1978): 4141–4144.
- [21] Villaescusa Castillo, L, A Diaz Lanza, R Faure, L Debrauwer, R Elias, and Guy Balansard. “Two Sesquiterpenoids, Lucinone and Glutinone, from *Jasonia Glutinosa*.” *Phytochemistry* 40, no. 4 (November 1995): 1193–1195.
- [22] Sánchez-Martínez, R, L Villaescusa-Castillo, and M Bernabé. “Two New Eudesmane Alcohols from *Jasonia Glutinosa*.” *Z. Naturforsch* 55 (2000): 693–696.
- [23] González, M, and L Villaescusa Castillo. “Volatile Composition of *Jasonia Glutinosa* D. C.” *Z Naturforsch C* 58 (2003): 11–12.

- [24] Ahmed, A, and Ahmed A. Mahmoud. "Jasonol, a Rare Tricyclic Eudesmane Sesquiterpene and Six Other New Sesquiterpenoids from *Jasonia Candicans*." *Tetrahedron* 54, no. 28 (July 9, 1998): 8141–8152. doi:10.1016/S0040-4020(98)00453-0.
- [25] Ahmed, A, and Tom J. Mabry. "Flavonoid Aglycones from *Jasonia Montana*." *Phytochemistry* 28, no. 2 (1989): 665–667. doi:10.1016/0031-9422(89)80084-6.
- [26] El-Bassuony, A, and M Kabbash. "Montanone, a New Sesquiterpene from *Jasonia Montana*." *Saudi Pharmaceutical* 14 (2006): 126–128.
- [27] AL-Howiriny, T, A AL-Rehaily, and J POLS. "Three New Diterpenes and the Biological Activity of Different Extracts of *Jasonia Montana*." *Natural Product Research* 19, no. 3 (2003): 253–265.
- [28] Sacco, T, and M Maffei. "Essential Oil from *Chiliadenus Lopadusanus* Growing Spontaneously in Lampedusa Island (Italy)." *Planta Medica* 53, no. 6 (1987): 509–582.
- [29] Zito, P, M Sajeve, E Scirica, and M Bruno. "Essential Oils of *Chiliadenus Lopadusanus* (Asteraceae)." *Natural Product Communications* 8, no. 8 (2013): 1159–1162.
- [30] Morales, R. "The History, Botany and Taxonomy of the Genus *Thymus*. In: *Thyme: The Genus Thymus*." *Taylor et Francis*, 2002, 1–43.
- [31] Morales, R. "El Género *Thymus* L. En La Region Mediterranea Occidental (Lamiaceae)" 6 (1989): 205–211.
- [32] Hazzit, M, A Baaliouamer, M. L Faleiro, and M. G Miguel. "Composition of the Essential Oils of *Thymus* and *Origanum* Species from Algeria and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities." *J Agric Food Chem* 56 (2006): 314–321.
- [33] Bekhechi, C, F. A Bekkara, and D. E Abdelouahid. "Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus Fontanesii* Boiss. et Reut. From Algeria." *J Essent Oil Res* 19, no. 6 (2007): 594–596.
- [34] Hazzit, M, A Baaliouamer, and A. R Verissimo. "Chemical Composition and Biological Activities of Algerian *Thymus* Oils." *Food Chem* 116 (2009): 714–721.
- [35] Bousmaha-Marroki, L, F Atik-Bekkara, F Tomi, and J Casanova. "Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus Ciliatus* (Desf.) Benth. Ssp. *Eu-Ciliatus* Maire from Algeria." *J Essent Oil Res* 19 (2007): 490–493.

- [36] Dob, T, D Dahmane, T Benabdelkader, and C Chelghoum. “Studies on the Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Thymus Algeriensis* Boiss. et Reut.” *Int J Aromather* 16 (2006): 95–100.
- [37] Djerroumi, A, and M Nacef. “100 Plantes Médicinales d’Algérie. Ed Palais Du Livre.” *Ed Palais Du Livre*, 2004, 131–135.
- [38] Hans, W. K. “1000 Plantes Aromatiques et Médicinales.” *Ed. Terre*, n.d., 2007.
- [39] Valnet, J. “Aromathérapie: Traitement Des Maladies Par Les Essences de Plantes.” *Ed. S. A. Maloine*. 1984.
- [40] Ipek, E, H Zeytinoglu, S Okay, and M Kurkcuoglu. “Genotoxicity and Antigenotoxicity of *Origanum* Oil and Carvacrol Evaluated by Ames Salmonella/microsomal Test.” *Food Chemistry* 93 (2005): 551–556.
- [41] Szentandrassy, N, P Szentesi, and J Magyar. “Effect of Thymol on Kinetic Properties of Ca and K Currents in Rat Skeletal Muscle.” *BMC Pharmacology* 3 (2003): 9.
- [42] Kholkhal, F. “Etude Phytochimique et Activité Antioxydante Des Extraits Des Composés Phénoliques de *Thymus Ciliatus Ssp Coloratus* et *Ssp Euciliatus*.” Doctorat en biologie, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, 2013.
- [43] Benabid, A. “, Flore et Écosystèmes Du Maroc. Evaluation et Préservation de La Biodiversité.” 2000, Ed. Ibis Press Edition.
- [44] Ebrahimi, S. N, J. H Mirjalili, and A Sonboli. “Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Thymus Caramanicus* at Different Phonological Stages.” *Food Chem.* 10 (2008): 1016.
- [45] Rasooli, I, M. B Rezaei, and A Allameh. “Ultrastructural Studies on Antimicrobial Efficacy of Thyme Essential Oils on *Listeria Monocytogenes*.” *International Journal of Infectious Diseases* 10 (2006): 236–241.
- [46] Cosentino, S, C. I. G Tuberoso, B Pisano, and M Satta. “In Vitro Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Sardinian *Thymus* Essential Oils.” *Letters in Applied Microbiology* 29 (1999): 130–135.
- [47] Adwan, G, B Abu-Shanab, F Adwan, and F Abu-Shanab. “Antibacterial Effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas Aeruginosa-Turk*.” *J Biol* 30 (2006): 239–242.
- [48] Soto-Mendivil, E. A, J. F Moreno-Rodriguez, and M. E Starron-Espinosa. “Chemical Composition and Fungicidal Activity of the Essential Oil of *Thymus Vulgaris* against *Alternaria citri*.” *E-Gnosis* 4, no. 16 (2006).
- [49] Adzet, T, R Granger, J Passet, and R San Martin. “Le Polymorphisme Chimique Dans Le Genre *Thymus*: Sa Signification Taxonomique.” *Biochemical Systematics and Ecology* 5 (1977): 269–272.

- [50] Benjilali, B, M Hammouni, and H Richard. "Chemical Polymorphism of Moroccan Thyme Essential Oils: Compounds Characterization." *Sci. Aliments* 7 (1987): 77–91.
- [51] Bouchenak Khelladi, B. "Contribution À L'étude Du Condensé et Du Reste Après Hydrodistillation Selon Moritz Pendant L'isolation Des Huiles Essentielles Du *Thymus Ciliatus* de Terny et Sidi Djillali, Leur Analyse Sur CCM, CPG." Thèse ingéniora, Université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid, 1990.
- [52] Stahl-Biskup, E. "The Chemical Composition of *Thymus* Oils: A Review of the Literature 1960–1989." *JOURNAL OF ESSENTIAL OIL RESEARCH* 3, no. 2 (1991): 61–82.
- [53] Amarti, F, B Satrani, M Ghanmi, and A Aafi. "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, no. 1 (2010): 141–148.
- [54] Ghorab, H, A Kabouche, Z Semra, and A Ghannadi. "Biological Activities and Compositions of the Essential Oil of *Thymus Ciliatus* from Algeria." *Scholars Research Library* 5, no. 1 (2013): 28–32.
- [55] Cherchar, H, D Berrehal, A Khalfallah, and A Kabouche. "Chemotypes of Algerian and Moroccan *Thymus Ciliatus*." *Mor. J. Chem*, 2014, 85–89.
- [56] Amrouni, S, M Touati, and Y Hadeff. "Effet de L'huile Essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* Sur Pseudomonas Aeruginosa VIM-2 Carbapénémase." *Phytothérapie* 12 (2014): 309–313.
- [57] Tefiani, C, A Riazi, F Youcefi, and S Aazza. "Ammoides Pusilla( Apiaceae) and *Thymus Munbyanus* ( Lamiaceae) from Algeria Essential Oils: Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxydant and Antiproliférative Activities." *Essential oil Reserch*, n.d., 2015.
- [58] Kholkhal, F, H. A Lazouni, and M Bendahou. "Étude Phytochimique et Évaluation de L'activité Anti-Oxydante de *Thymus ciliatus ssp. Coloratus*." *Afrique Science* 09, no. 1 (2013): 151–158.
- [59] Kerharo, J. "L'aromathérapie et La Gemmothérapie Dans La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle." *Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée* 18, no. 4 (1971): 109–141.
- [60] Bruneton, J. "Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales." *Tec & Doc. Lavoisier*. 1993.
- [61] Association Française de Normalisation, Recueil de normes Françaises "Huiles essentielles", AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006, 1986.
- [62] Hernandez Ochoa, L. R. "Substitution de solvants et matière active de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale." Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques, 2005.

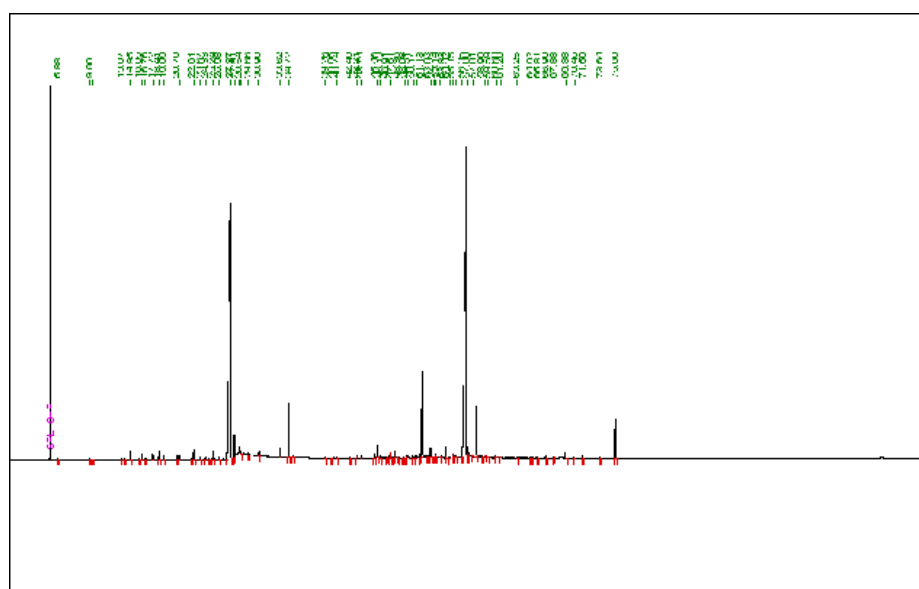
- [63] Baghdad, F. “L’aromathérapie et Citrus.” Thèse de pharmacie, Montpellier, 1988.
- [64] Kanko, C, B El-HadjSawaliho, and S Kone. “Étude Des Propriétés Physico-Chimiques Des Huiles Essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*.” *Comptes Rendus Chimie* 7, no. 10–11 (2003): 1039–1042.
- [65] Boughendjioua, H. “Les Plantes Médicinales Utilisées Pour Les Soins de La Peau. Composition Chimique, Activité Antioxydante et Antimicrobienne Des Huiles Essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus Numidicus*.” Thèse en vue de l’obtention d’un diplôme de doctorat en science, **Badji-Mokhtar, 2015.**
- [66] Maruzzella, J. “The Germicidal Properties of Perfume Oils. *Perfumery Chemicals*” 77 (1962): 67-72.
- [67] Hitokoto, H, and S Morozumi. “Inhibitory Effects of Spices on Growth and Toxin Production of Toxicogenic Fungi.” *Appl. Environ. Microbiol* 39, no. 4 (1980): 818-822.
- [68] Beraoud, L, M Bessiere, and A TantaouiElaraki. “Chemical Composition of the Essential Oils of Selected Plant Materials Used In Moroccan Cuisine.” *Al-Biruniya* 7, no. 1 (n.d.): 49-69.
- [69] Madhyastha, M, S, and R Bhat V. “Aspergillus parasiticus Growth and Aflatoxin Production on Black and White Pepper and the Inhibitory Action of Their Chemical Constituents.” *Appl. Environ. Microbiol* 48, no. 2 (1984): 376-379.
- [70] Office fédéral de la santé publique. “Les Huiles Essentielles.” Confédération suisse, 2008.
- [71] Meynadier, J.M, and N Raison-Peyron. “Allergie Aux Parfums.” *Re. Fr. Allergol* 37, no. 5 (1997): 641–650.
- [72] “Natural Essential Oils: Extraction Processes And Applications To Some Major Oils.” *Meyer-Warnod, Perfumer&Flavorist* 9 (1984): 93–103.
- [73] “Apparatus For Volatil Oil Déterminations Description Of New Type J .F.Clevenger.” *AmericanPerfumer& Essential OilReview*, 1928, 467–503.
- [74] Pingot, A. “Les Huiles Essentielles.” *Ed. Tec. & Doc*, 1998, 230–36.
- [75] A.N.R.H. : AGENCE NATIONALE DES RESSOURCES HYDRAULIQUES, 2016.
- [76] Carre, P. “Précis de Technologie et de Chimie Industrielle,” 1953, T3.Ed. ballière JB. et fils edition.
- [77] Adams, R.P. “Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectroscopy.” *Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois*, 1995.
- [78] Köning, W. A, D.H. Hochmuth, and D Joulain. “Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils.” University of Hambourg ,Institute of Organic Chemistry, 2001.



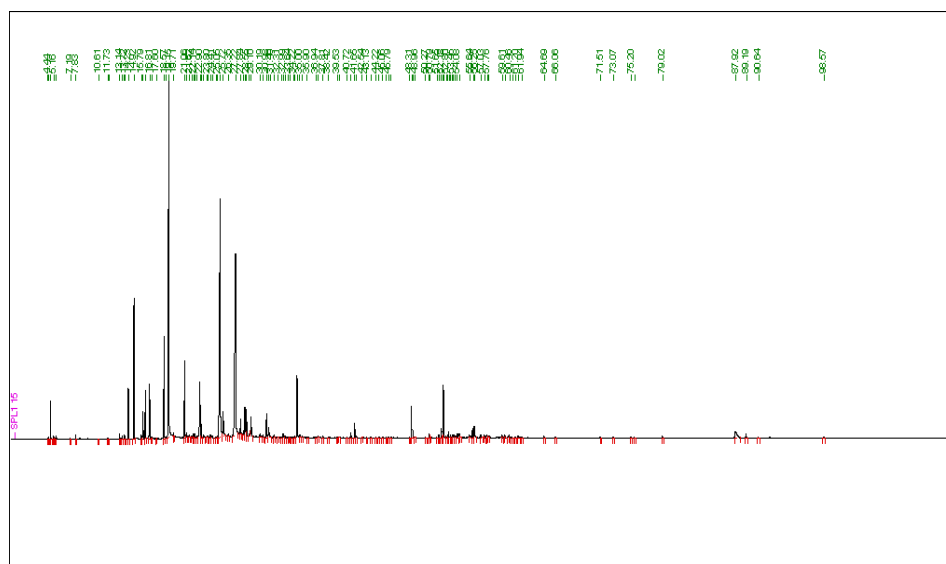
- [79] National Institute of Standards and Technology, PC version 1.7 of the IST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Perkin Elmer Corp: Norwalk, CT. (1999).
- [80] Beyleir-Maurel, F. “Activités Bactériostatiques Des Matières Premières.” *Parfumerie Rivista Italiana EPPOS* 58 (1976): 283–86.
- [81] Jacob, M, J Pelleueur, and R Tomeri. “Centre Régional D’étude et de Développement Des Plantes À Usage Pharmaceutique.” *Rivisa Italiana EPPOS* 11 (1979): 26–30.
- [82] Ponce, A.G, R Fritz, and Del Valle. “Antimicrobial Activity of Essential Oils on the Native Microflora of Organic Swiss Chard.” *LWT -Food Sci. Technol* 36, no. 7 (2003): 679–84.
- [83] Soliman, K. M, and R. I Badeaa. “Effect of Oil Extracted from Some Medicinal Plants on Different Mycotoxigenic Fungi.” *Food and Chemical Toxicology* 40, no. 11 (2002): 1669–1675.
- [84] “European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. Method for the Ditermination of Minilum Inhibitory Concentration (MIC) Broth Dilution of Fermentatives Yeasts.” *EUCAST Discussion Document E. Dis 7-1. Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 9 (2009): 1–8.
- [85] “Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.” *Twenty-First Informational Supplement*, 2011
- [86] Hatano, T, H Kagawa, T Yasuhara, and T Okuda. “Two New Flavonoids and Other Constituents in Licorice Root: Their Relative Astringency and Radical Scavenging Effects.” *Chem Pharm Bull* 36, no. 6 (1988): 2090–97.
- [87] Porte, E. “Synthèse et Etudes de Étrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications À La Préservation de Matériaux D’origine Naturelle.” Thèse de doctorat, Université Bordeaux I, 2008.
- [88] Bouguerra, A. “Etude Des Activités Biologiques de L’huile Essentielle Extraite Des Graines de Foeniculum Vulgare Mill. En Vue de Son Utilisation Comme Conservateur Alimentaire.” MEMOIRE Présenté pour l’obtention du Diplôme de Magister en Sciences Alimentaires, Mentouri Constantine, 2012.
- [89] Tabti, L, M. A Dib, N Gaouar, S Bouayad, and B Tabti. “Antioxidant and Antifungal Activity of Extracts of the Aerial Parts of *Thymus Capitatus* (L.) Hoffmanns Against Four Phytopathogenic Fungi of *Citrus Sinensis*.” *Jundishapur J Nat PharmProd* 9, no. 1 (2013): 49–54.
- [90] Lee, J.Y, P.Y Cho, and T.Y Kim. “Hemolytic Activity and Developmental Expression of Pore-Forming Peptide.” *Clonorin. Biochem. Biophys. Res. Commun*, 2002, 1238–1 24.
- [91] Mironescua, M, and C Georgescu. “Preliminary Researches on the Effect of Essential Oils on Moulds Isolated from Surfaces.” *Agroalimentary Processes and Technologies* 14 (2008): 30–33.

# **Annexes**

## Annexe 1



**Figure 12 :** Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Chiliadenus rupestris* (Maghnia).



**Figure 13 :** Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Thymus coloratus* (Bouhanak)

Annexe 2

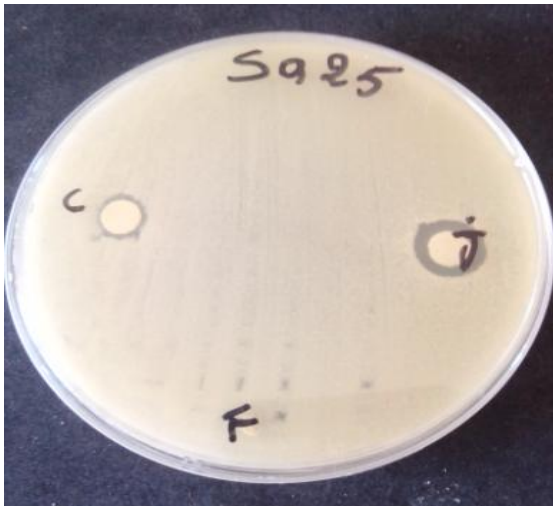


Fig.14: Effet du deux H.E sur la bactérie *Sa*

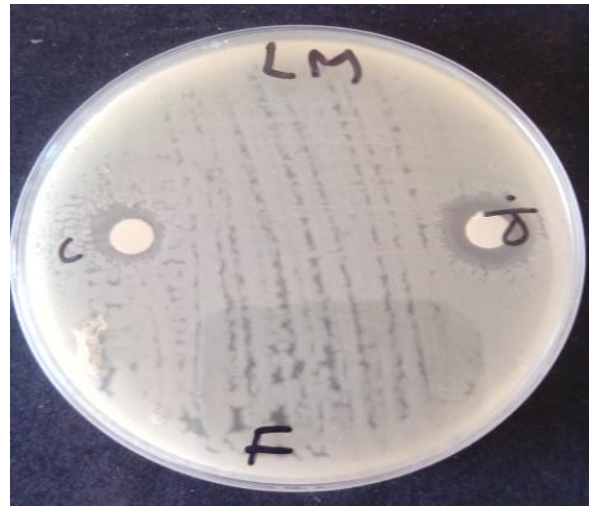


Fig.15: Effet du deux H.E sur la bactérie *Lm*

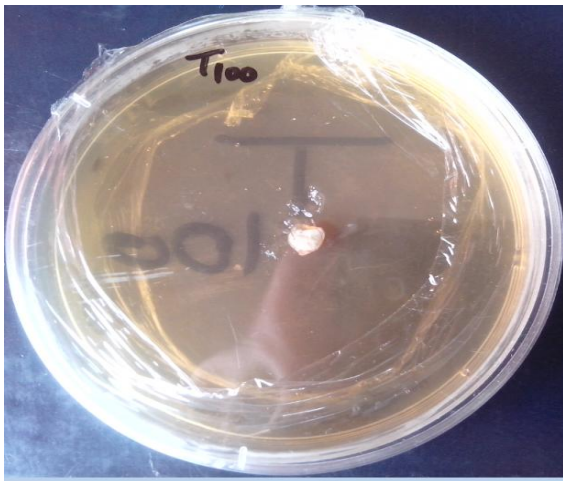


Fig.16: Effet de *T. coloratus* (100 $\mu$ l) Sur *Asp flavus*.

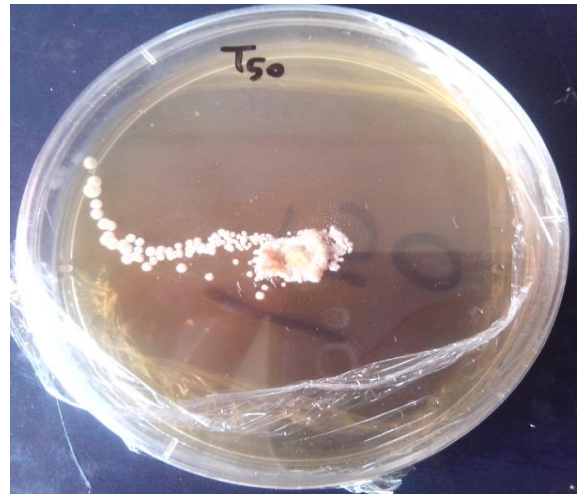


Fig.17: Effet de *T. coloratus* (50 $\mu$ l) sur *Asp flavus*

### Annexe 3

**Tableau 13 :** Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de *Chiliadenus rupestris*.

<b>Concentration (mg/ml).</b>	<b>2.5</b>	<b>1.25</b>	<b>0.625</b>	<b>0.312</b>	<b>0.15</b>	<b>0.075</b>
<b>% inhibition</b>	48.295	32.812	28.835	22.727	17.897	19.318

**Tableau 14 :** Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de *Thymus coloratus*.

<b>Concentration (mg/ml).</b>	<b>2.5</b>	<b>1.25</b>	<b>0.625</b>	<b>0.312</b>	<b>0.15</b>	<b>0.075</b>
<b>% inhibition</b>	84.678	71.504	65.912	56.591	48.868	45.079