



**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Saad Dahleb Blida -1**



**Facultés des Sciences de la Nature et de la Vie**



**Département de Biotechnologie et Agro-alimentaire**

**Mémoire de fin d'étude**

**En vue de l'obtention du Diplôme du Master Académique**

**Option : Biotechnologie**

**Spécialité**

**Biotechnologie et Valorisation des Plantes**

**Thème**

**Activités biologiques des huiles essentielles de quatre espèces végétales médicinales et formulation d'un gel parapharmaceutique.**

**Réalisé par :**

ALIMOUSSA Imane / BEN SAID Insaf / NEFFAH Melissa / BOUCHELAGHAM Baya

**Soutenu le : 23/06/2025**

**Devant le jury composé de :**

Mr Bendali A	MAA	Université Saad Dahleb Blida	Président
Mme Ghanai R	MCB	Université Saad Dahleb Blida	Promotrice
Mme Boutekrabt N	MCB	Fac centrale Alger	Examinatrice

**Année universitaire: 2024 / 2025**



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## *Remerciements*

*Avant tout, nous exprimons notre gratitude envers Dieu Tout-Puissant pour nous avoir accordé la force, la patience et la détermination nécessaires pour réaliser ce travail avec succès. Merci à Dieu de nous indiquer la voie de la réussite.*

### *A notre promotrice*

*Nous souhaitons exprimer notre reconnaissance à notre promotrice de recherche, **Mme Ghanaï Rafika**, pour son attention constante portée à ce projet en acceptant de superviser cette étude avec efficacité ; Pour ses précieux encouragements, son orientation scientifique et ses recommandations avisées qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail exceptionnel ; Pour sa présence continue, son soutien indéfectible, sa patience et sa bienveillance, mais aussi pour l'honneur et la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de notre étude pratique. Nous espérons que vous percevrez ici notre profonde gratitude.*

### *Aux membres du jury*

*Nous souhaitons exprimer notre profonde reconnaissance à **Mr Bandali A.** pour l'honneur de présider le jury et d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à **Mme Boutekrabt N**, qui a eu l'amabilité d'étudier et d'évaluer ce mémoire.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à tous nos enseignants pour leur générosité et leur immense patience, en dépit de leurs obligations académiques et professionnelles considérables.*

*Nous souhaitons finalement exprimer notre gratitude à tous ceux qui ont participé, de manière directe ou indirecte, à l'accomplissement de notre tâche.*

*Un grand merci à tous !*



## *Dédicaces*



*Dans les moments de fatigue, Il m'a donné la force. Et dans les moments d'égarement, Il m'a rappelé l'importance de la persévérance. Je Lui rends grâce pour chaque souffle, chaque réussite, et chaque épreuve qui m'a fait grandir.*

### *À ma chère maman*

*La femme la plus forte et la plus douce que je connaisse. Ton amour, tes prières silencieuses, et tes encouragements constants m'ont porté durant chaque étape de ce parcours. Tu es mon pilier, ma lumière dans l'obscurité. C'est grâce à ton courage, ta patience et ton cœur immense que j'ai pu aller aussi loin. Merci pour tout, maman.*

### *À mon cher papa*

*Ton sens du devoir, ta sagesse, et ta foi en moi m'ont toujours guidé. Tu m'as appris la valeur de l'effort, de l'intégrité, et de la persévérance. Merci pour tes sacrifices et pour avoir toujours cru en mes capacités, même dans les moments où moi-même j'en doutais.*

### *À mes sœurs*

*Yassmin , soumia , cerine .Merci pour vos mots doux, vos attentions, et vos encouragements. Chacune de vous, à sa manière, a su me soutenir et m'apporter la force de continuer. Vos sourires, vos conseils et votre amour m'ont souvent réconforté.*

### *À mon frère*

*youcef , Merci pour ta présence rassurante, ton humour qui a allégé bien des journées stressantes, et ta confiance en moi. Tu as toujours été un exemple de force et de complicité*

### *À ma promotrice*

*Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame GHANAI Rafika, pour sa disponibilité, ses conseils avisés, sa rigueur et son accompagnement bienveillant tout au long de ce travail.*

### *À mes cousines*

*(lilia , rania , samah , khouloud , asma .....tous ). Merci pour votre amour, encouragements, vos messages réconfortants et votre présence dans ma vie.*

### *À mes collegue dans cette étude*

*Insaf , baya , melissa .Merci pour votre esprit d'équipe, votre sérieux et votre détermination. Travailler à vos côtés a été une expérience enrichissante, faite d'échanges, de partage et de respect.*

***imane***



## **Dédicaces**



*À Allah, le Savant, source de tout savoir et de toute puissance, les éloges Lui sont dus pour m'avoir orientée et assistée durant tout ce cheminement. Sans Son consentement, rien n'aurait été possible.*

### **A moi-même**

*pour ma patience , ma persévérance ,ma détermination , et mes efforts tout au long de mon parcours d'études.*

### **A mes chers parents**

*A mon père nacim ,pour tout le soutien qu'il m'a apporté, pour ses efforts constants et ses sacrifices au fil des années. Sa présence et son travail acharné ont été une véritable source de motivation tout au long de mon parcours .A ma mère nabila , Merci ma mère, mon amie et ma compagne dans ce parcours, merci pour ton soutien constant, pour avoir toujours pensé à moi, et pour toute la fatigue que tu as endurée pour moi. Tu as été mon appui à chaque étape, et ta présence m'a donné une force indescriptible. Ce travail est aussi le fruit de ton effort, je te le dédie avec toute ma fierté et ma gratitude, toi qui es la plus précieuse dans ma vie.*

### **A mon unique frère abdelmoneim**

*sa présence joyeuse et sa douceur ont allégé bien des moments.Avec toute mon affection et ma gratitude.*

### **À ma promotrice, Madame ghanai.rafika**

*Merci pour votre encadrement, vos conseils précieux et votre soutien tout au long de ce travail.*

### **A ma familles**

*Merci à ma famille et à chaque personne qui m'a apporté son soutien tout au long de ce cheminement. Je tiens à adresser un remerciement particulier à ma tante Mazoura, qui a constamment été un bastion de douceur et d'appui, ainsi qu'à ma grand-mère bien-aimée, dont les prières authentiques m'ont toujours accompagné.*

**Baya**



## Dédicaces



*Au début je remercie **DIEUX** pour la réussite dans mon parcours d'étude*

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

*À moi-même pour avoir cru, parfois avec peine, mais toujours avec espoir.  
Pour avoir persévéré, malgré les obstacles, jusqu'à franchir cette étape.*

*A ma très chère mère Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie, Puisse Dieu tout puissant, te préserver et l'accorder santé, longue vie et Bonheur*

*À mon très cher père à mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager merci pour ta force, ton regard rassurant et ton soutien inconditionnel. Ta présence, même discrète, m'a donné confiance en chaque pas.*

*À mes sœurs bien-aimées, **Chahrazed et Yasmine** merci pour vos sourires, vos encouragements et votre complicité. Votre amour m'a accompagné dans les moments de doute comme dans les moments de joie.*

*À mes beaux-frères, **Salim et Aboubakr**, merci pour votre gentillesse, votre respect et votre soutien bienveillant. Votre présence a compté plus que vous ne pouvez l'imaginer*

*À ma tante **Sabrina**, merci pour ton affection sincère, tes mots réconfortants et ton écoute précieuse. Tu as toujours su être là d'une manière douce et rassurante*

*À Mme **GHANAI Rafika** ma promotrice, je vous exprime ma profonde gratitude pour votre accompagnement, vos conseils éclairés et votre patience. Votre bienveillance m'a encouragé à donner le meilleur de moi-même.*

*A mes camarades **Imane, Baya et Melissa** avec qui j'ai partagé des moments de stress et de folie durant cette année, avec qui j'ai passé l'une des meilleures années durant mon cursus universitaire, avec qui j'ai passé des jours et des nuits pleines de fatigue afin de mener à bien ce travail*

*À ma chérie **Djamila** pour ton amour tendre et ta présence constante, merci d'avoir été là dans les silences, les fatigues, les doutes... merci d'avoir toujours la pour moi, à chaque étape de ma vie Ce travail est aussi le fruit de ta lumière.*

*A mes chers amis je tiens à vous exprimer ma gratitude, Pour les moments partagés, les rires infinis, avec certitude, Votre amitié est un trésor précieux.*

*À tous ceux qui partagent l'amour avec moi et croient en moi*

**Insaf**



## *Dédicaces*



### *« Dieu tout puissant »*

*Sans Ta lumière, je n'aurais pu avancer ;  
Sans Ta grâce, je n'aurais pu persévérer.*

*Je dédie ce mémoire, fruit de plusieurs mois de travail, à ceux qui comptent le plus pour moi.*

*À mon père, pour ses conseils, sa confiance et son encouragement constant. Ta sagesse m'a  
guidé tout au long de ce parcours.*

*À ma mère, pour son amour inconditionnel, sa patience et son soutien de chaque instant. Tu  
es ma source de force et d'inspiration*

*À mon petit frère, dont la joie de vivre m'a souvent redonné le sourire même dans les  
moments les plus stressants. Tu es un rayon de soleil dans ma vie.*

*À mes amies, pour leur présence, leur écoute, leur humour et leur motivation. Merci d'avoir  
toujours cru en moi.*

*À vous tous, ce travail est aussi le vôtre. Merci du fond du cœur*

**Melissa**



## Résumé

### Activité biologique des huiles essentielles de quatre espèces végétales médicinales et formulation d'un gel parapharmaceutiques

Ce travail porte sur l'étude de quelques activités biologiques de huiles essentielles de quatre espèces médicinales et aromatiques : le citron (*Citrus limon*), le thym (*Thymus vulgaris*), le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et le géranium rosat (*Pelargonium graveolens*), ainsi que de leurs mélanges. Le rendement de l'huile essentielle extraite à partir des écorces fraîches de *Citrus limon* est 0.32 % .l'analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CGMS ) à permis de reveler la presence des composants majeurs : l'eugenol representant 82,37% dans HE de clou de girofle , le thymol 92,28% pour le *thymus vulgaris* , le limonene 35,29 % , citron est le citronelle 31,45% de HE de *geranium rosat* . l'activité antioxydante, mesurée selon le test DPPH a revelé que le mélanges des 4 huiles ( thymus , clou de girofle , géranium , citrus ) presente le plus fort pouvoir antioxydant (IC<sub>50</sub>= 4.5 ug/ml ), suivie par celle de *thymus vulgaris* (IC<sub>50</sub>= 5.1 ug/ml ). L'activité antimicrobienne a été testée sur quatre souches bactériennes, (*Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus*); et une levure pathogène (*Candida albicans*), selon la methode de diffusion sur un milieu nutritive . L'huile essentielle de thym a présenté la meilleure activité (ZI = 47.22mm) par rapport qux trois autres huiles essentielles , tandis que le mélange de HE de thymus et clou de girofle a montré l'effet antimicrobien le plus puissant ( ZI= 73.41mm) .L'activité anti-inflammatoire a été évaluée à l'aide de tests in vitro (inhibition de la dénaturation des protéines) et in vivo selon le modèle d'œdème de l'oreille chez la souris. Le mélange de thym et de clou de girofle a montré l'effet anti-inflammatoire le plus significatif ( 65% ).

**Mots clés :** Thymus, geranium, citron , huile essentielle , anti inflammatoire , anti microbienne



## Abstract

### Biological activity of essential oils from four medicinal plant species and formulation of a para-pharmaceutical gel

This work focuses on the study of some biological activities of essential oils from four medicinal and aromatic species: lemon (*Citrus limon*), thyme (*Thymus vulgaris*), clove (*Syzygium aromaticum*), and geranium (*Pelargonium graveolens*), as well as their mixtures. The yield of the essential oil extracted from fresh *Citrus limon* peels is 0.32%. The analysis of essential oils by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) revealed the presence of major components: eugenol representing 82.37% in clove essential oil, thymol 92.28% for *Thymus vulgaris*, limonene 35.29%, citron is citronellol 31.45% of geranium rose essential oil. The antioxidant activity, measured using the DPPH test, revealed that the mixture of the four oils (thyme, clove, geranium, citrus) exhibits the strongest antioxidant power ( $IC_{50} = 4.5 \mu\text{g/ml}$ ), followed by that of *Thymus vulgaris* ( $IC_{50} = 5.1 \mu\text{g/ml}$ ). The antimicrobial activity was tested on four bacterial strains (*Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus*) and a pathogenic yeast (*Candida albicans*). according to the diffusion method on a nutrient medium. Thyme essential oil exhibited the best activity ( $ZI = 47.22\text{mm}$ ) compared to the other three essential oils, while the mixture of thyme and clove essential oils showed the most potent antimicrobial effect ( $ZI = 73.41\text{mm}$ ). The anti-inflammatory activity was evaluated using in vitro tests (inhibition of protein denaturation) and in vivo on the mouse ear edema model. The mixture of thyme and clove showed the most significant anti-inflammatory effect (65%).

**Keywords:** Thyme, clove; geranium, lemon essential oil, anti-inflammatory, antimicrobial



## ملخص

### النشاط البيولوجي للزيوت العطرية من أربعة أنواع من النباتات الطبية

#### وصياغة هلام شبه صيدلاني

يركز هذا العمل على دراسة بعض الأنشطة البيولوجية للزيوت العطرية من عدة أنواع طبية وعطرية: الليمون (*Citrus limon*)، والزعتر (*Thymus vulgaris*)، والقرنفل (*Syzygium aromaticum*)، وإبرة الراعي الوردية (*Pelargonium graveolens*)، بالإضافة إلى مخاليطها. تبلغ نسبة إنتاج الزيت العطري المستخرج من قشر الليمون الحمضي الطازج 0.32%. المكونات الرئيسية التي تم الحصول عليها عن طريق تحليل CGMS هي: الأوجينول الذي يمثل 82.37% في القرنفل، الثيمول 92.28% للغدة الزعترية، الليمونين 35.29%، الليمون هو السترونيلا 31.45% من نبات إبرة الراعي الوردية. كشف النشاط المضاد للأكسدة، الذي تم قياسه وفقاً لاختبار DPPH، أن خليط 4 زيوت (الغدة الزعترية، القرنفل، إبرة الراعي، الحمضيات) يقدم أعلى قوة مضادة للأكسدة ( $IC_{50} = 4.5 \text{ ug/ml}$ )، تليها الغدة الصعترية الشائعة ( $IC_{50} = 5.1 \text{ ug/ml}$ ). تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية (*Salmonella*, *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*) وخميرة مسببة للأمراض (*Candida albicans*).

وفقاً لطريقة الانتشار على وسط غذائي، أظهر زيت الزعتر العطري أفضل نشاط (م  $ZI = 47.22$ )، في حين أظهر خليط الزعتر والقرنفل أقوى تأثير مضاد للميكروبات ( $ZI = 73.41 \text{ mm}$ ) بالنسبة للزيوت الأخرى. تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات باستخدام الاختبارات المختبرية (تنشيط تحلل البروتين) والاختبارات الحيوية على نموذج الفأر لوذمة الأذن، وأظهر خليط الزعتر والقرنفل التأثير المضاد للالتهابات الأكثر أهمية (65%).

**الكلمات المفتاحية:** زعتر، قرنفل، إبرة الراعي، ليمون، زيت أساسي، مضاد الالتهاب، مضاد الميكروبات.



## Liste des figures

<b>figure 01:</b> Girofler de Madagascar	5
<b>Figure 02:</b> Feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte	6
<b>Figure 03:</b> Branche de girofler portant les clous en inflorescence terminale	6
<b>Figure 04:</b> Les clous de girofle à l'état Frais et secs	7
<b>Figure 05:</b> Anthofles le fruit de girofler	7
<b>Figure 06:</b> la carte géographique des principaux producteurs de clou de girofle du monde	8
<b>Figure 07:</b> Principaux constituants de huile de <i>S.aromaticum</i>	8
<b>Figure 08:</b> Feuilles, fleurs et fruits de <i>Citron</i>	10
<b>Figure 09:</b> la morphologie de la plante <i>citrus limon</i>	10
<b>Figure 10 :</b> Coupe transversale de fruit d'un <i>Citrus</i>	11
<b>Figure 11:</b> Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i>	15
<b>Figure 12:</b> Répartition de l'espèce <i>Thymus vulgaris L</i> dans quelques regions d'Algérie	16
<b>Figure 13:</b> Inflorescences de <i>Pelargonium graveolens</i>	19
<b>Figure 14:</b> Aspects morphologiques de <i>géranium rosat</i> Appareils végétatif	19
<b>Figure 15 :</b> Aspects morphologiques de <i>géranium rosat</i> Appareils reproducteur	20
<b>Figure 16 :</b> dispositif semblable à un alambic	26
<b>Figure 17:</b> hydro distillation	27
<b>Figure 18:</b> phase huileuse et aqueuse	28
<b>Figure 19 :</b> Structure de DPPH et mécanisme de sa réduction par un antioxydant	30
<b>Figure 20 :</b> application le traitement dans l'oreille gauche de souris	34
<b>Figure 21:</b> pourcentage d'inhibition du DPPH par les HEs étudiées et par la vitamine C en fonction des différentes concentrations	46
<b>Figure 22:</b> pourcentage d'inhibition du DPPH par les mélanges des HEs étudiées et par la vitamine C en fonction des différentes concentrations	47



<b>Figure 23:</b> Valeurs d'IC50 des HEs et des mélanges étudiées et de la vitamine C	49
<b>Figure 24:</b> résultat de lanapath prés lobservation de microscope	58
<b>Figure 25:</b> résultat de clou de girofle + <i>thymus vulgaris</i>	59
<b>Figure 26 :</b> courb d'étalonnage du diclofénac	60



## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i>	17
<b>Tableau 02</b> : Les souches microbiennes testées	26
<b>Tableau 03</b> : Répartition des groupes et traitement des souris	34
<b>Tableau 04</b> : Rendement des HE	40
<b>Tableau 05</b> : Caractéristiques des HEs obtenu par hydrodistillation	41
<b>Tableau 06</b> : Composition qualitative et quantitative de HEs <i>S. aromaticum</i>	42
<b>Tableau 07</b> :Composition qualitative et quantitative de HEs <i>Thymus vulgaris</i>	43
<b>Tableau 08</b> : Composition qualitative et quantitative de HEs <i>Citrus limon</i>	43
<b>Tableau 09</b> : Composition qualitative et quantitative de HEs <i>Géranium rosat</i>	44
<b>Tableau 10</b> : Zone d'inhibition (ZI) des huiles essentielles en mm	50
<b>Tableau 11</b> : Zone d'inhibition (ZI) de mélanges des huiles essentielles en mm	53
<b>Tableau 12</b> : Effet inhibiteur des 4 HE et des différents mélanges sur l'œdème d'oreille induit par le xylène .	55
<b>Tableau 13</b> : résultats de pourcentage d'inhibition de l'hymolyse par rapport la concentration équivalente en diclofénac ug/ml .	59



## Liste des abréviations

**CG** : *clou de girofle*

**Cl**: *citrus limon*

**S. aromaticum**: *Syzygium aromaticum*

**TV**: *Thymus vulgaris*

**HE** : huile essentielle

**ZI** : zone d'inhibition

**SM** : souche microbienne

**Bc** : *Bacillus cereus*

**Ca** : *Candida albicans*

**E. coli** : *Escherichia coli*

**P** : *Pseudomonas aeruginosa*

**Sa** : *Salmonella aboney*

**St**: *Staphylococcus aureus*

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**G+** : Gram positive

**G-** : Gram negative

**HE** : huile essentielle

**M** : mélange

**P** : pure

**ANPP** : Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques

**PBS** : Solution salin tamponé



## Sommaire

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	

1

## Partie bibliographique

### Chapitre I : Les espèces végétales étudiées

I. clou de girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> L)	5
I.1. Description morphologique	5
I.2. Classification taxonomique	7
I.3. Habitat et Répartition géographique	7
I.4. Composition chimique	8
I.4.1. Huile essentielle de <i>clou de girofle</i>	8
I.5. Usage	9
II. citrus limon	9
II.1. Description morphologique	9
II.2. Classification taxonomique	11
II.3. Habitat et Répartition géographique	11
II.4. Composition chimique	12
II.4.1. Huile essentiel de citrus limon	12
II.5. usage	
III. Le thym ( <i>Thymus vulgaris</i> L)	14
III.1. Description morphologique	14
III. 2. Classification taxonomique	15
III. 3. Habitat et Répartition géographique	16
III. 4. Composition chimique	16
III. 4.1. Huile essentiel de thymus vulgaris	17
III. 5. Usage	18



IV. géranium rosat	19
IV.1. Description morphologique	19
IV.2. Classification taxonomique	20
IV.3. Habitat et Répartition géographique	21
IV.4. Composition chimique	21
IV.4.1. huile essentielle	21
IV.5. Usage	22

## **Partie expérimentale**

### **Matériel et méthode**

I. Matériel	25
I.1. Matériel végétal	25
I.2. Matériel animal	25
I.3. Souches microbiennes testées	25
I.4. Matériels non biologiques	26
II. Méthodes	26
II.1. Extraction des huiles essentielles	26
II.2. Analyses chromatographique des huiles essentielles	29
II.3. Préparation des mélanges des huiles essentielles	29
II.4. Etude de pouvoir antioxydant des huiles essentielles et de leur mélanges	30
II.5. Etude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles et de leur mélanges	31
II.6. Etude de l'activité anti inflammatoire in vivo	33
II.7. Etude de l'activité anti inflammatoire in vitro	36
II.8 Formulation d'un gel anti-inflamatoire	37

## **Résultats et discussion**

I. Rendement des HEs	39
II. Caractéristiques des huiles essentielles	39
III. Analyses chromatographiques	40
IV. pouvoir antioxydant des huiles essentielles	44
V. pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	49
VI. Activité anti inflammatoire	53



VI.1. In vivo	53
VI.2. In vitro	57
VII. Formulation d'un gel parapharmaceutique	57
<b>Conclusion</b>	<b>59</b>
<b>Référence bibliographiques</b>	<b>62</b>
<b>Annexes</b>	



# Introduction



## Introduction



Depuis l'Antiquité, les plantes aromatiques et médicinales ont été utilisées dans de nombreuses civilisations comme sources naturelles de soins pour prévenir et traiter diverses maladies. Elles occupaient une place centrale dans les systèmes médicaux traditionnels d'Égypte, de Grèce, de Chine ou encore d'Inde (Cowan, 1999 ; Who, 2003). On assiste à un regain d'intérêt pour les produits d'origine naturelle, en particulier les huiles essentielles, en raison de leurs nombreuses propriétés biologiques, notamment antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires (Bakkali et al., 2008 ; Silva & Fernandes Júnior, 2010). Cette tendance s'explique en partie par la recherche de solutions alternatives face à la résistance croissante des agents pathogènes aux traitements chimiques, ainsi que par les effets secondaires associés à certains médicaments de synthèse (Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008). Selon l'organisation mondiale de la santé (l'OMS) l'antibiorésistance est identifiée comme l'une des menaces les plus sérieuses pour la santé publique.(Maugat et al, 2019).

L'Algérie est reconnue par sa diversité variétale et la richesse de sa flore en plantes médicinales et aromatiques (Blama et Mamine, 2013) grâce à sa position géographique. Elle est située au nord du continent africain, bordant la méditerranée d'ouest en est, se compose de quatre principaux ensembles de reliefs, le tell, les hauts plateaux, l'atlas saharien et le Sahara qui se succèdent du nord au sud, une topographie variée et des conditions climatiques variées qui permettent la croissance de près de 3 000 espèces de plantes différentes dont 168 espèces endémiques (Cheriti et al, 2006). Ces différentes espèces représentent un important réservoir de plantes riches en huiles essentielles ayant des propriétés aromatiques et médicinales, par ailleurs Les HE constituent naturellement des complexes de molécules aromatiques (jusqu'à 200 molécules) ayant des propriétés différentes et souvent synergiques.( Couic-Marinier, 2023) la synergie des huiles essentielles est particulièrement recherchée dans les formulations thérapeutiques, car elle permet non seulement d'augmenter l'efficacité des huiles, mais aussi de réduire les doses nécessaires et donc les effets indésirables potentiels. Plusieurs études ont confirmé que certaines combinaisons d'huiles essentielles présentent des effets antimicrobiens, antifongiques ou anti-inflammatoires renforcés, mettant en évidence l'intérêt de l'approche synergique dans la conception de produits naturels (Bassolé & Juliani, 2012).

Dans ce contexte, notre étude s'est intéressée à l'exploration de quelques propriétés biologiques de quatre huiles essentielles issues de plantes médicinales largement reconnues : *Syzygium aromaticum* (clou de girofle), *Thymus vulgaris* (thym), *Citrus limon* (citron), et



## Introduction



*geranium rosat* (géranium). Ces espèces sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle, en raison de leurs vertus thérapeutiques bien documentées.

L'analyse des activités biologiques des mélange de ces huiles essentielles et l'identification chromatographique des composés de ces huiles essentielles permet de comprendre et d'expliquer la synergie de ces différents composés

Les observations relatives aux résultats des propriétés biologiques des différentes huiles essentielles et de leurs mélanges nous orientent vers l'idée de formuler un gel anti-inflammatoire à base des huiles essentielles d'espèces aromatiques étudiées. Cela permettrait d'intégrer ce travail dans le contexte d'un projet de start-up.

L'objectif principal de ce travail est double

- Évaluer le potentiel antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire des huiles essentielles sélectionnées, à l'état pur ainsi qu'en synergie
- Développer une formulation parapharmaceutique à usage topique, incorporant ces huiles essentielles, en vue d'une valorisation industrielle.

Le présent mémoire s'organise en deux grandes parties : une revue bibliographique détaillée présentant les caractéristiques botaniques, chimiques et thérapeutiques des plantes étudiées, suivie d'une partie expérimentale consacrée aux méthodes utilisées pour cette étude et à la présentation des résultats obtenus



# Partie bibliographique



# Chapitre I

Les espèces végétales étudiées

## I. *Syzigium aromaticum* L

### I.1. Description morphologique

Le clou de girofle (*Syzigium aromaticum* L.) est une épice aromatique possédant un ligneux de 6 à 12 m de haut( figure 1 ), qui peut vivre jusqu'à 150 ans. C'est un arbre sempervirent, de forme pyramidale ou conique, qui possède un tronc principal de forme oblique. Il est recouvert, ainsi que tous les rameaux, d'une écorce lisse et de couleur gris clair. Chaque rameau porte à son extrémité un bouquet de 4 à 10 feuilles avec un bourgeon terminal. De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette (Atmani et Baira, 2015).



**Figure 01** : Giroflier de Madagascar (Alain, 2023)

Les feuilles sont de 8 à 10 cm de long, coriaces, persistantes, opposées, pétiolées, aux limbes lancéolés, à la face supérieure vert rougeâtre et à la face inférieure vert sombre, légèrement ponctuée. Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle à froissement (ghedira et all 2010) , A l'état adulte (figure 2), les feuilles sont vertes foncé luisant, mais lorsqu'elles se développent elles sont de couleur rose saupoudrées d'or (Sophie, 2015).



**Figure 02:** Feuilles jeunes de couleur rose et feuilles matures de couleur verte (Barbelet, 2015).

L'inflorescence comprend de petites cymes (4–5 cm) compactes et ramifiées, regroupées en paniculées de trois à cinq petites fleurs parfumées, au calice tubulaire blanc cassé, puis rouge (quatre sépales rouges charnus et persistants) et à la corolle blanc rosé (quatre dialypétales blancs) (Ghedira, K. et al 2010)(figure 3)



**Figure03 :** Branche de giroflier portant les clous en inflorescence terminale Barbelet, S(2015),

Ce sont les boutons floraux non encore épanoui, appelés « clous » (figure 4), qui sont cueillis et séchés (Eric,2014). Ils comportent une partie quadrangulaire longue de 10 à 12 mm pour un diamètre de 2 à 3 mm, appelé hypanthe, qui correspond à l'ovaire infère, et une tête globuleuse, d'un diamètre de 4 à 6 mm, limitée par 4 sépales divergents et 4 pétales imbriqués (Chaouch, 2023). De couleur rose en boutons, les clous de girofle virent au brun lorsqu'ils sont séchés au soleil (Chevallier, 2007) .

Le fruit de cette essence ligneuse, nommé « anthofles » ou « mères de girofle », est une baie oblongue verte, à chaire pourpre violacé longue d'environ 2 cm (figure 5). De façon générale ce fruit ne contient qu'une seule graine (Botineau, 2010). Le fruit, très aromatique, arrive à maturité neuf mois après la floraison (Alain, 2023).



**Figure 04** : Les clous de girofle à l'état  
Frais et secs (Auvray, 2020)



**figure 05** : Anthofles le fruit de  
giroflier (Alain,2023)

## I.2. Classification taxonomique

Classification de clou de girofle selon **APG IV** (L. Merr. & L. M. Perry )

Domain: Eukaryota / (unranked): Archaeplastida

Regnum: Plantae / Cladus: Angiosperms

Cladus: eudicots / Cladus: core eudicots

Cladus: superrosids / Cladus: rosids

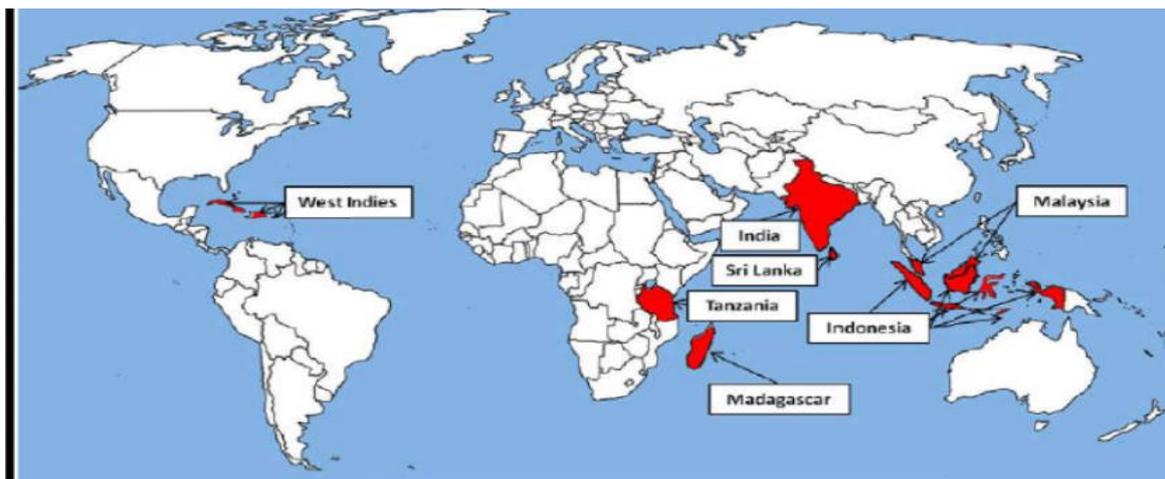
Cladus: eurosids II / Ordo: Myrtales

Familia: Myrtaceae / Genus: *Syzygium*

Species: *Syzygium aromaticum*

## I.3.Habitat et Repartitions géographique

Les clous de girofle sont originaires de l'Indonésie et se trouvent surtout dans le nord et le centre de Maluka (Moluques) et Papua Barat (Irian Jaya)(Bhowmik et al., 2012). et maintenant largement cultivé au Brésil, en Haïti, au Kenya, en Malaisie, à Maurice, au Mexique, aux Seychelles(Lim, 2014).en particulier en Zanzibar, à Madagascar, aux Philippines, en Inde, au Sri Lanka, en Tanzanie(Charles, 2013) ( figure 6).



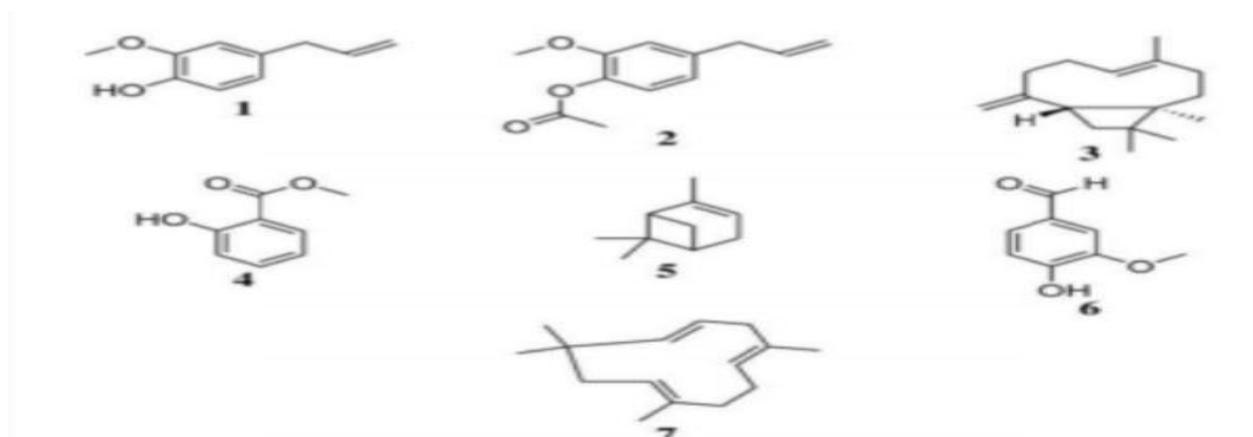
**Figur 06:** la carte géographique des principaux producteurs de clou de girofle du monde (Kamatou, Vermaak, & Viljoen, 2012).

#### I.4. Composition chimique

*Syzygium aromaticum* représente l'une des principales sources végétales de composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les acides hydroxy benzoïques, les acides hydroxycinnamique et hydroxyphényl propènes, ainsi que les terpénoïdes (Bao et al., 2012), (Cortés-Rojas et al., 2014).

##### I.4.1. L'huile essentiels de clou de girofle

L'eugénol (7.1) est le composé principalement responsable de l'arôme du clou de girofle et constitue 72 à 90% de l'huile essentielle de girofle (Kamatou et al., 2012). Les autres constituants courants de l'huile essentielle comprennent l'acétate d'eugényle (7.2), le  $\beta$ -caryophyllène (7.3), le salicylate de méthyle (7.4), le pinène (7.5), la vanilline (7.6) et l' $\alpha$ humulène (7.7) (Kuetze, 2017).



1 : eugénol / 2 : acétate d'eugényle / 3 :  $\beta$ -caryophyllène / 4 : le salicylate de méthyle / 5 : le pinène  
6 : la vanilline / 7 : l' $\alpha$ humulène

**Figure 07 :** constituants de huile de *S.aromaticum* (Jirovetz et al., 2006)



### I.5. Utilisations de clous de girofle

Les usages du girofle sont variés. Le clou est d'abord une épice utilisée dans de nombreuses cuisines orientales ou occidentales (Eric, 2017).

Le clou est connu pour ses propriétés antiseptiques et anesthésiques, utilisé depuis très longtemps en dentisterie, cosmétique et parfumerie. La majeure partie de la production mondiale sert à la fabrication des kreteks, cigarettes traditionnelles indonésiennes avec du girofle (Eric, 2017).

L'huile essentielle du giroflier est antiseptique grâce à sa richesse en eugénol. Ceci dit, l'eugénol peut déclencher une réaction d'hypersensibilité ou d'irritation cutanée, ce qui rend l'utilisation de cette huile très délicate (Chaib, 2014). L'eugénol est couramment utilisé dans de nombreuses préparations dentaires, que ce soit par des laboratoires spécialisés ou par les dentistes eux-mêmes lors de la confection de pâtes et de ciments dentaires (Isabelle, 2020).

Les clous de girofle soulagent les troubles digestifs, tels que flatulences et coliques. Ils apaisent aussi la toux et appliqués localement les spasmes musculaires (Chevallier, 2007).

En usage externe, cette plante est utilisée pour désinfecter la sphère bucco-dentaire (Chaib, 2014).

## II. *citrus limon*

### Généralité

Le mot " agrumes " est un nom collectif désignant les espèces utilitaires du genre *Citrus*. Le terme général d'agrumes regroupe toute une famille de fruits qui ont comme points communs une écorce épaisse et odorante, chargée d'huiles essentielles, et une chair juteuse divisée en quartiers, contenant des pépins plus ou moins acide (Bousbia, 2011). Le genre *Citrus* est celui qui renferme le plus d'espèces et de variétés d'agrumes consommées, commercialisées et utilisées industriellement partout dans le monde (Praloran, 1971).

### II.1. Description morphologique

Le citron est le fruit du citronnier (*Citrus limon*) (figure 9), Ce dernier est un arbuste originaire du sud-est asiatique, cultivé sur le littoral de la Méditerranée et dans toutes les régions du globe à climat semi-tropical (Débuigine et Couplan , 2008.). Le citron est un agrume plus vigoureux, son arbre vert et aromatique est caractérisé par une croissance

## LES ESPECES VEGETALES ETUDIEES

rapide et d'une durée de vie d'environ 40 ans, supporte une température minimale de  $-2^{\circ}\text{C}$ , de taille moyenne qui atteindra, en pleine terre entre 3 et 6 m de haut, porte 5-6 branches charpentières très fournies en rameaux, les racines superficielles forment un réseau dans les 80 premiers centimètres de sol, supportent mal la concurrence de plantes voisines et Ils peuvent vivre environ 80 ans (Ben Yahmed, Ghrab, & Mimoun, 2011). En culture, il est souvent taillé, d'une part pour limiter son encombrement, d'autre part optimiser son branchage. (Gollouin et Tonelli , 2013).

**Les feuilles** des citronniers sont des feuilles vertes persistantes et alternatives( figure 8), vert profond et luisantes, plus pâles sur leur revers. Elles ont une forme en fuseau, de 6 à 11 cm de long et leur pétiole est parfois ailé. Les feuilles sont très odorantes en raison des multiples poches à essence qu'elles contiennent, qui sont visibles à l'oeil nu. (Gollouin et Tonelli , 2013.)

**Les Fleurs** ont 5 pétales blanche de petites tailles (figure 8 ), à teinte blanc violacée , axillaires réunies en petits groupes légèrement cireuse d'aspect, elle dégage un parfum très agréable. Selon les espèces, la fleur se transforme en fruit mur.

**Les fruits** sont juteux, acides et très parfumés de forme ovale (8-12 cm) de long sur (5-6 cm) de diamètre(figure 8), avec un mamelon plus au moins apparent à son extrémité. La peau (l'écorce) fine est d'épaisseur variable, colorée en jaune ou verte à maturité du fruit ; elle est pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences. La pulpe est généralement riche en acide citrique et juteuse avec quelques pépins, ce qu'il lui donne sa saveur acide (blancke , 2001). Le citron reste longtemps sur l'arbre sans que le goût s'altère. ( Bachés , 2011). Les plus estimés sont dits « première fleur » (primofiori) (récolte d'octobre à décembre) et « seconde fleur » (mars, avril). Ils se conservent de 6 à 8 mois. ( Bousbia , 2011) et la fructification de l'hiver est plus importante (de 60 à 70% de production annuelle de l'arbre(Débuigine et Couplan, 2008). Il produit de 30 à 40 t/ha le jus de fruit a un  $\text{pH} = 2.5$  (Bouchachia, 2017).



**Figure 08:** Feuilles, fleurs et fruits de



**Figure 09 :** la morphologie de la

Citron( Gollouin etTonelli, 2013)

*Citrus limon* (sw2).

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Citronnier>.

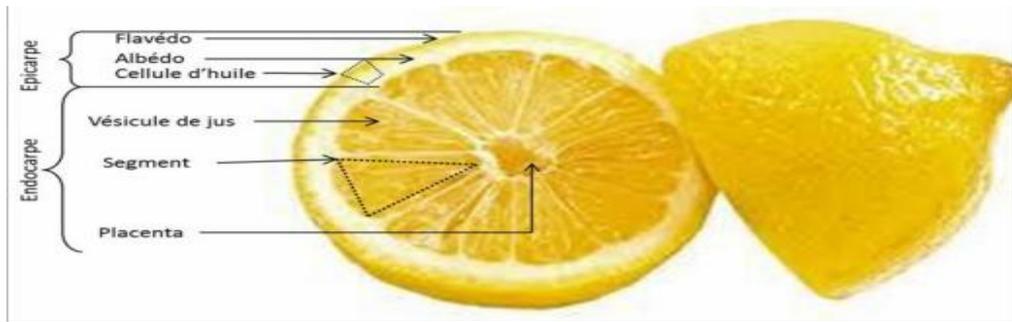


Figure 10: Coupe transversale de fruit d'un Citrus (Duan et al., 2014).

## II.2. Classification taxonomique

Nom commun : citron.

Nom scientifique : *Citrus limon*

Le citron s'est d'abord appelé « limon », terme emprunté à l'italien limone, qui Venait lui même de l'arabo-persan limûn. Le mot est apparu dans la langue française en 1351. De là vient le mot « limonade ». Le terme « citron », né en 1398, est dérivé du latin Citrus, il a graduellement remplacé « limon » dans la langue populaire. (Hellal Zohra., 2012)

### Classification de *citrus limon* selon APG IV

Domain: Eukaryota	(unranked): Archaeplastida
• Regnum: Plantae	ladus: Angiosperms
Cladus: eudicots	Cladus: core eudicots
Cladus: superrosids	Cladus: rosids
Cladus: eurosids II	Ordo: Sapindales
Familia: Rutaceae	Subfamilia: Aurantioideae
Tribus: Aurantieae	Genus: <i>Citrus</i>

Nothospecies: *Citrus limon* (L.) Burm.f. (1768).

## II.3.Habitat et Répartition géographique



Le *Citrus limon* est considéré comme originaire du nord-ouest ou du nord-est de l'Inde. Il était introduit en Espagne et en Afrique du Nord, a ensuite été distribué à travers l'Europe par les croisés, qui l'ont trouvé poussant en Palestine, étaient cultivés aux Açores et expédiés en grande partie en Angleterre. (Waliwita et al, 2021). Il est très répandu en Méditerranée et notamment en Algérie tout le long du littoral et dans les jardins (Lucienne, 2010). L'Algérie a acquis une collection variétale composée de 277 variétés d'espèces agrumes en 2006. Ces espèces se localisent dans les zones irrigables de la partie Nord du pays, où elle trouve la température clémente qui assure sa réussite et en raison de son exigence en eau et qualité de sol exactement dans la plaine de la Mitidja qui représente la zone potentielle en agrumiculture, elle couvre une surface de : 36 219 ha (Meziane, 2013).

### II.4. Composition chimique

*Citrus limon* contient de nombreux composants chimiques, y compris les composés phénoliques (tel que les flavonoïdes dont les flavanones sont les plus abondants 90%, contenus dans la partie blanche de la peau du fruit), et d'autres éléments nutritifs et non nutritifs (vitamines, minéraux, fibres alimentaires, huiles essentielles et caroténoïdes) (González-Molina et al, 2010).

Le citron est un fruit particulièrement riche en vitamine C, tout en contenant également, en plus faibles quantités, des vitamines du groupe A et B, notamment B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B3 (niacine), B6 (pyridoxine) et B9 (acide folique). Sa teneur en protéines est estimée à environ 1,1 g pour 100 g de fruit. Le citron contient également divers minéraux essentiels tels que le sodium (Na), le potassium (K), le calcium (Ca), le cuivre (Cu), le fer (Fe), le magnésium (Mg), le zinc (Zn) et le phosphore (P). Parmi eux, le potassium est le plus abondant, avec une concentration pouvant atteindre 8600 mg/100 g. Ces éléments jouent un rôle fondamental dans le fonctionnement des systèmes biologiques, sont indispensables à la nutrition humaine et trouvent de nombreuses applications en médecine clinique (USDA, 2020), (Ben Yahmed, Ghrab, & Mimoun, 2011). La peau de citron contenait de la graisse brute (4,98%), fibre brute (15,18%). L'arôme de citron résulte des huiles essentielles abondantes dans les vacuoles de l'écorce, il s'agit d'un mélange de limonène, du citral, citronellal et des coumarines. L'acide citrique est l'acide organique le plus représenté dans le citron avec une quantité de 5–6 g/100 ml (González-Molina et al., 2010); (Guimaraes et al., 2010); (Janati et al., 2012).



Les huiles essentielles de *Citrus* contiennent une proportion relative et importante d'hydrocarbures terpéniques, dont le plus abondant est le limonène alors qu'il ne participe que peu à l'arôme (Praloran, 1971).

### **II.5. Usage de *citrus limon***

Le citron est largement utilisé dans divers domaines en raison de sa composition biochimique et de ses propriétés organoleptiques.

En cuisine, le zeste du citron, finement râpé ou pelé, est apprécié pour son arôme intense qui rehausse les plats et les pâtisseries. Quant à son jus, il est couramment utilisé dans la préparation de boissons rafraîchissantes et de recettes culinaires, notamment en tant qu'agent acidifiant naturel (Bourgeois & Lemoine, 2010).

En cosmétologie, le citron est utilisé pour resserrer les pores, il passe pour éclaircir la peau, résorber les comédons et s'utilise en masque antirides ou pour donner de l'éclat aux cheveux. Il entre aussi dans la composition de nombreux parfums (Bousbia, 2011). De plus, le citron contient des flavonoïdes, en particulier de flavanone qui montre des activités bénéfiques en tant qu'agents protecteurs contre le cancer et les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et allergique (Gil-Izquierdo et al., 2004).

Le citron est utilisé par les femmes pendant la grossesse pour soulager les nausées et les vomissements (Yavari kia et al., 2014).

## **III. Le thym (*Thymus vulgaris* L)**

### **Historique**

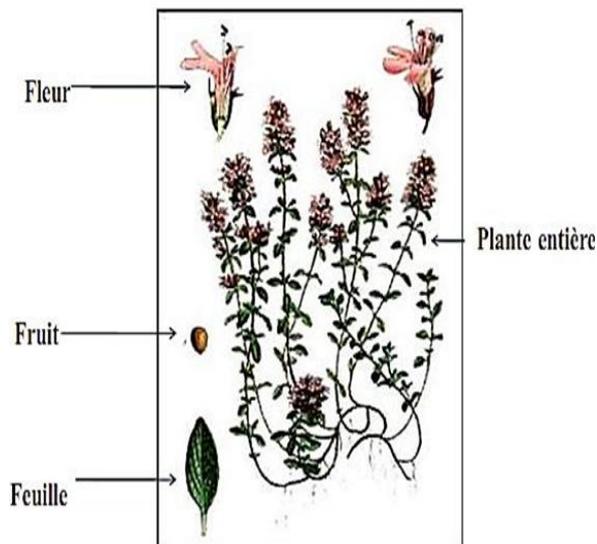
Le nom « Thymus » dérive du mot grec « Thymus » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage Pariente,( 2001), communément appelé thym de jardin ou thym commun Shmeit et al.,( 2020) et en Algérie elle est nommée zaater. Cette plante a été utilisée par les Grecs comme encens dans leurs temples et par les Romains dans la cuisine et comme source de miel Balladin et Headley, ( 1999), elle est utilisée depuis l'antiquité comme ingrédient culinaire, pour ajouter de la saveur aux fromages et aux liqueurs, et pour aromatiser les viandes comme le lapin, l'agneau (Satyal et al., 2016).

### **III.1. Description morphologique**

## LES ESPECES VEGETALES ETUDIEES

Le thym est un sous-arbrisseau touffu et dressé, pouvant atteindre 40 cm de hauteur, à tiges fortement ramifiées, ligneuses et tortueuses à la base. Les rameaux blanchâtres car courtement velus, portent des feuilles persistantes, de petite taille (3 à 12mm de long sur 0.5 à 3mm de large), opposées, lancéolées ou linéaires, à limbe entier ; elles sont subsessiles et de couleur vert grisâtre ; beaucoup sont le point de départ de Ramus cules très courts, formant des faisceaux de petites feuilles issus de celles de tiges, leur face inférieure est feutrée et ponctuée de poils sécréteurs, alors que leur face supérieure est glabre et marquée par une nervure centrale déprimée; les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face ventral, ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille (Bousselmi, 2015). Les fleurs, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles plus grandes que les autres, sont rassemblées en glomérules ovoïdes ; elles sont de petite taille et zygomorphes; le calice est velu, hérissé de poils durs, en forme de tube ventru à la base et de 3 à 4 mm de long; il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée (Eberhard et al., 2005) (figure 11).

Thym vulgaire, thym des jardins, farigoule, férigoule, barigoule, thym commun, thym cultivé et saatar ou zaatar (en arabe صعتر ou زعتر) (Teuscher et al., 2005). Et connu localement sous le nom de "زعيرة" (Amiot J. 2005)



**Figure11** :Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris*. (Iserin, 2001).

### III. 2. Classification taxonomique

Classification selon l'APG III (Angiosperm Phylogeny Group) :

## LES ESPECES VEGETALES ETUDIEES

Règne : Plantae / Classe : Angiospermes ou Magnoliophyta

Sous classe : Eudicotylédone Supérieures gamopétales: Astéridées

Ordre : Lamiales / Famille : Lamiaceae ((Spichiger et al.2004).

### III. 3.Habitat et répartition géographique

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (figure 12) Il est très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), les montagnes d'Éthiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Égypte. Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries, Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. dans le nord, il pousse en Sibérie, en Europe nordique jusqu'aux bords du Groenland (Abdelli.2017).L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales au regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thym est une plante répandue en Algérie(figure12). Les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (Touhami, 2017).

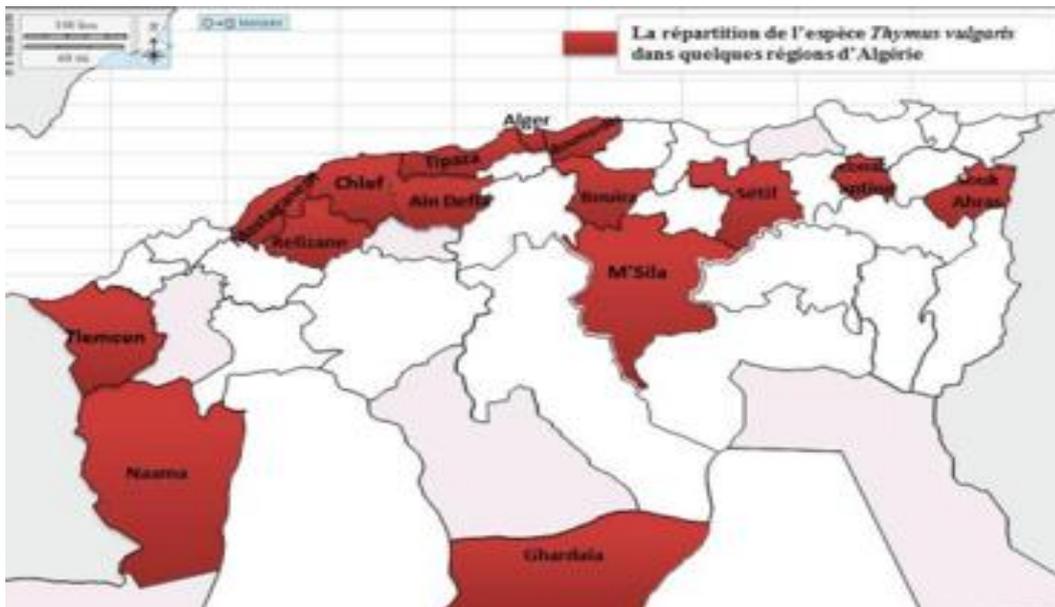


Figure 12: Répartition de l'espèce *Thymus vulgaris* L dans quelques regions d'Algérie

(Abed et al., 2020)

### III. 4. Composition chimique



## LES ESPECES VEGETALES ETUDIEES

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, est composée d'une quantité très variable en phénols dont le thymol et le carvacrol sont les majeurs constituants. Elle contient également d'autres composants minoritaires comme présentés dans le (tableau 01) (ABDELLI, 2017).

**Tableau 01** : Composition chimique de l'huile essentielle de *T. vulgaris* (ABDELLI, 2017).

Famille	Compositions
Phénols (20-80%)	Thymol (30-70%)
	Carvacrole (3-15%)
Alcools	Linalool (4-6.5%)
	$\alpha$ -terpinéol (7.8 - 8.9%)
Monoterpènes Hydrocarbonés	p-cymène (15 - 20%)
	$\gamma$ -terpinène (5 - 10%)
	bornéol, camphre, limonène, myrcène, $\beta$ -pinène, transsabinène hydrate et terpinène-4-ol (0.5 - 1.5%)
Sesquiterpènes Hydrocarbonés	$\beta$ -caryophyllène (1 - 3%)

Par ailleurs, *Thymus vulgaris* est une espèce aromatique largement reconnue pour son polymorphisme chimique. Elle est représentée par au moins sept chémotypes distincts, définis en fonction du constituant principal de leur huile essentielle. Deux de ces chémotypes sont à structure phénolique : le thymol et le carvacrol, connus pour leurs fortes propriétés antimicrobiennes. Les cinq autres sont à structure non phénolique : le géraniol, l' $\alpha$ -terpinéol, le thuyanol-4, le linalool et le 1,8-cinéole, chacun présentant des profils biologiques et olfactifs spécifiques (Bounatirou et al., 2007).

Cette variabilité chimique dépend de plusieurs facteurs, qui sont généralement d'ordres climatiques, environnementaux, génétiques, saisonniers (ABDELLI, 2017).

Elle peut aussi être due, aux conditions de séchage, de stockage et des méthodes d'études (Raymond, 2005).



### III. 5. Usages

#### Utilisation culinaire et agroalimentaire

*Thymus vulgaris* est l'un des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le domaine alimentaire (Adwan et al., 2006). Le thym est consommé en tisane, condiment ou épices (Stahl-Biskup et Sàez, 2002). L'épice *Thymus vulgaris* est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, des Volailles, des potages et des légumes (Özcan et Chalchat, 2004).

#### Utilisation en médecine traditionnelle

Les espèces de *Thymus* sont considérées comme des plantes médicinales en raison de leurs propriétés pharmacologiques et biologiques. Le Thym est l'une des plantes les plus utilisées comme extraits à fort pouvoir antibactérien et anti-inflammatoire dans la pharmacopée traditionnelle (Lalami et al., 2013) ; (Labiad et al., 2017).

Cette plante aromatique très odorante est considérée comme l'un des remèdes les plus efficaces contre le rhume, la grippe et l'angine, elle calme les toux quinteuses, et diminue les sécrétions nasales. Elle contribue aussi dans le traitement de l'hypertension et les problèmes intestinaux et en usage externe pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Mebarki, 2010).

### IV. *géranium rosat*

Originaires d'Afrique australe où ils sont indigènes, les pélargoniums ont été importés en Europe vers 1690. Ce genre comprend plus de 200 espèces. Néanmoins, une dizaine de variétés seulement sont exploitées pour la production de l'HE. Il ne faut pas confondre le géranium commun des jardins (*P. hortorum*) et l'« Herbe à Robert » (*Géranium robertianum*) (Bruneton, 2009). Ils sont différents du géranium rosat car ils ne produisent pas d'HE. (lis-balchin, 2002).

Sous le nom générique de « géranium rosat » on regroupe plusieurs espèces appartenant au genre Pélargonium. Les plus importantes sont le Pélargonium graveolens, *P. roseum*, *P. odoratissimum* et *P. capitatum* (vidalie, 1998).

#### IV.1. Description morphologique

Le géranium est une plante pérenne vivace qui peut atteindre une hauteur de 90 cm et dont les tiges recouvertes de poils, forment des feuilles vertes découpées et dentelées. C'est avant la

## LES ESPECES VEGETALES ETUDIEES

fleuraison qu'on récolte les tiges feuillées pour distiller sur place et obtenir une essence huileuse, appelée traditionnellement essence de rosat. Les rameaux se lignifient au bout de 5 à 6 mois. Les fleurs sont roses clairs (figure 13) tirant au mauve (Nyabyenda., 2006).

Selon Seidemann (2005), plusieurs appellations sont attribuées au *géranium rosat*. Nous citerons quelques unes :

- En français : Géranium rosat, géranium odorant,
- anglais: Attar of rose, rose-scented geranium, scented pelargonium, rose geranium
- arabe En : حشيشة العطر ، عطر الورد، العطرشة



**Figure 13** : Inflorescences de *Pelargonium graveolens*( Atailia,2015).

**Appareils végétatif** :Les feuilles persistantes sont lobées (5 à 7 lobes) et opposées (Fig.14 b). Elles sont couvertes de poils glanduleux microscopiques qui libèrent un parfum au toucher ou sous l'effet de la chaleur. Les tiges sont vertes et tendres (Fig.14 a). Le système racinaire est pivot (Demarne , 1986).



(a)Partie aérienne de *P*



(b) Feuille isolée.

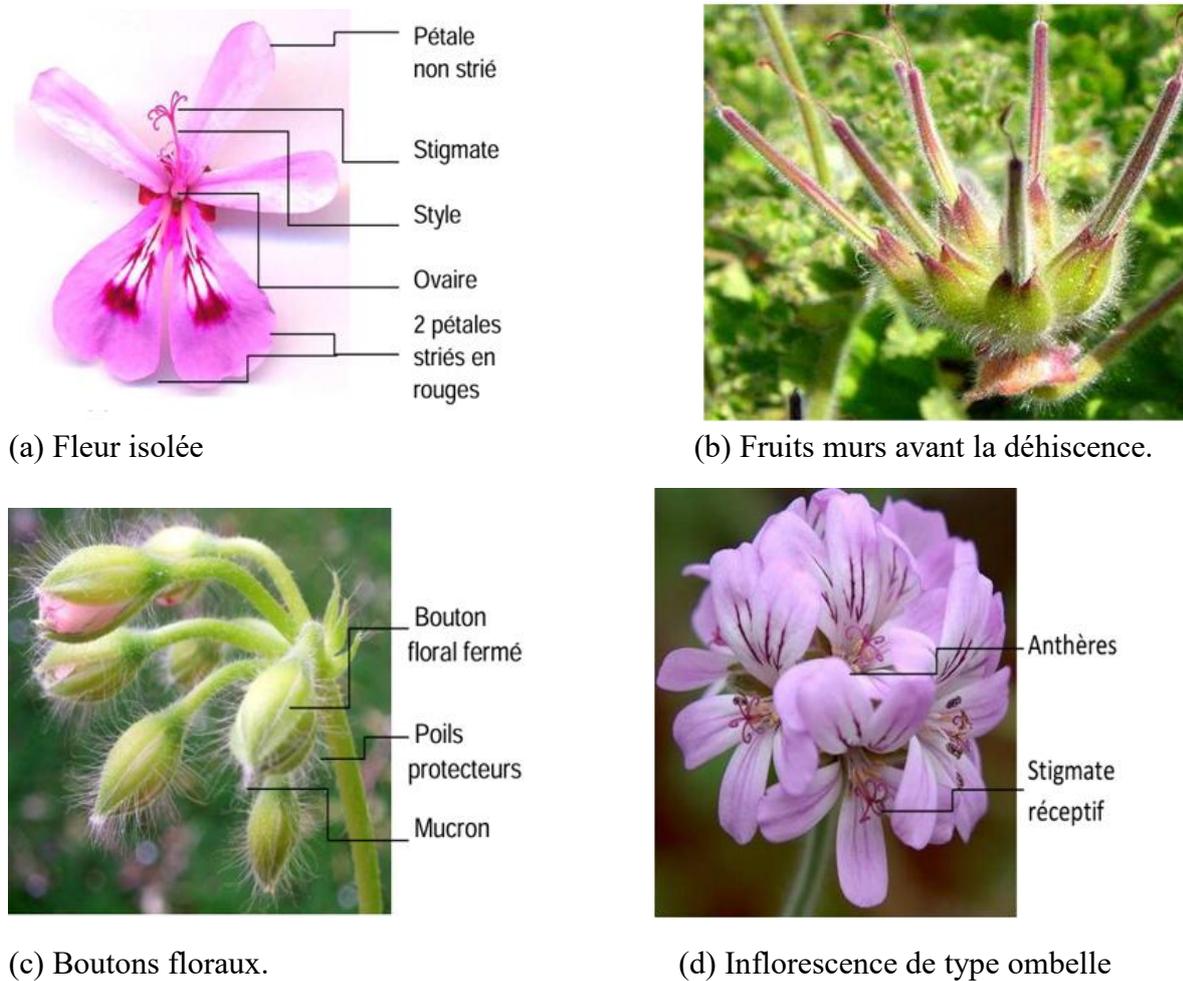
*Graveolens*

**Figure 14** : Aspects morphologiques de géranium rosat (*Pelargonium graveolens* (L.)(Original, 2009) .

**Appareil reproducteur**

Les fleurs sont groupées par paire. Elles sont de couleur rose et disposées en ombelles (Fig.15 d). Chaque fleur est constituée de :

- 5 sépales égaux présentant parfois une extrémité effilée, le mucron, (Fig.15 c)
- 5 pétales dont 2 différents, striés de rouge, (Fig.15.a)



**Figure 15** : Aspects morphologiques de géranium rosat (*Pelargonium graveolens* (L.)(Anonyme)

**IV.2.Classification taxonomique**

Selon la classification phylogénétique APG III (2009), l'ordre des Géraniales renferme les familles suivantes : Geraniaceae, Melianthaceae (y compris Francoaceae) et Vivianiaceae (y compris Ledocarpaceae). La caractérisation morphologique de Géraniales est difficile car les



genres de Melianthaceae et, dans une moindre mesure, de Ledocarpaceae sont divers (Kubitzki, 2007).

Phytochimiquement, les Géraniales sont caractérisées par la présence typique d'ellagitanins ; l'acide ellagique ; les gallotannins et la géraniine, un ellagitannin à base d'acide déshydroxy hexahydroxydiphénique, composé important dans le géranium (Kubitzki, 2007).

### IV.3. Habitat et Répartition géographique

*Pelargonium graveolens* est originaire d'Afrique du Sud (le Cap). C'est une plante largement répandue et cultivée en Espagne, en Italie, au Maroc, à l'Île de la Réunion, en Égypte et en Chine (ces deux derniers pays étant les plus gros producteurs). Elle est cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales où elle est distillée pour son HE (Fernandez et al., 2012) ,( Boukhatem et al, 2013) ,( Ravindra et al, 2015). En Algérie, cette plante annuelle et spontanée est largement répandue à titre industriel, principalement dans la plaine de Mitidja et à titre ornemental, dans les jardins et les cimetières (Atilia et Djahoudi, 2015) .

### IV.4. Composition chimique

Le profil chromatographique fait apparaître la présence de certains composants caractéristiques : Citronellol, Formate de citronellyle, Isomenthone, Géraniol, Linalool, Formate de géranyle, Oxyde de rose (AFNOR 2000) (Bezanger-beauquesne et al ,1980).

L'HE de géranium se compose majoritairement de 2 alcools : le Géraniol et le Citronellol qui existent pour 2/3 à l'état libre et pour 1/3 à l'état combiné sous forme d'esters (Lis-balchin ,2002) (Lis-balchin ,2005) (Azoug ,1997).

#### IV.4.1 huile essentielle

L'huile ou essence de géranium est obtenue par distillation à la vapeur d'eau, à partir des feuilles, des tiges, des fleurs et des pousses fraîches (Nyabyenda, 2006).

Selon Demarne (1992) et Bardeau (2009), Les teneurs en HE sont très faibles, de l'ordre de 0,15 à 0,2%. Cependant, ce taux diminue encore plus, durant la saison des pluies, et que le rendement est variable selon les variétés, le climat et la nature des sols.



### IV.5. Usage

Selon Bardeau (2009) et Nyabyenda(2006) : les HE de géranium rosat sont très employées en parfumerie. Quelques applications en cosmétologie et en pharmacie.

L'huile essentielle de géranium rosat est tonique, astringente, hémostatique, cicatrisante et antispasmodique, antiseptique, anti-inflammatoire, antibactérien efficace, fongicide puissant. Employée avec succès dans la cicatrisation des plaies, coupures, brûlures, ulcération et lésions diverses, elle donne aussi de bon résultats dans le traitement des eczémas, engelures, dartres, pédiculose ophtalmies, dermatoses, ainsi que pour calmer le prurit et l'inflammation des hémorroïdes (Franchomme et al 2001).



# Partie expérimentale



# Matériel et méthode



Notre travail vise à étudier les propriétés antimicrobiennes, antioxydante et anti-inflammatoires du mélange d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris L*, *Syzygium aromaticum L*, *citron limon* et *géranium rosat*.

L'extraction des huiles essentielles de *citrus limon* a été effectuée au laboratoire d'extraction de l'entreprise bio Extrapamal à Oued Alleug.

les analyses chromatographique des huiles essentielles ( CGMS) ont été réalisés au niveau du laboratoire de la police scientifique d'Alger.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire in vitro et antioxydant a eu lieu au sein du laboratoire pharmaceutique SAIDAL d'Alger à Dar El Beida, . Les tests de l'activité anti-inflammatoire in vivo ont été réalisés à l'Institut Pasteur d'Algérie dans le service ANPP.

La phase expérimentale s'est étendue de janvier à juin 2025.

### **I. Matériels biologique**

#### **I.1. Matériel végétal**

Nous avons acquis des fruits de *citrus limon* chez l'herboriste de Boufarik . Quant à l'huile essentielle de clou de girofle, *thymus vulgaris* et *géranium rosat*, nous les avons procurées auprès de la société Vie Bio située à Ouled Yaich, Blida et bio Extrapamal à Oued Alleug..

#### **I.2. Matériel animal**

Pour l'étude de l'activité anti inflammatoire in vivo nous avons utilisé 66 souris de race albinos femelles de poids variant entre 24 g et 35 g .

#### **I.3. Souches microbiennes testées**

Pour l'étude de l'activité antimicrobienne, nous avons testé la sensibilité de six souches microbiennes d'ATCC provenant du laboratoire pharmaceutique SAIDAL à Dar El Beida, en Algérie .

Il s'agit de cinq souches bactériennes et une seule souche fongique (tableau 02).

**Tableau 02** Les souches microbiennes testées

	Souches	Gram	Codes
<b>Bactériennes</b>	<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC 8139
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC 9027
	<i>Salmonella aboney</i>	-	ATCC 6017
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 6538
	<i>Bacillus cereus</i>	+	ATCC 6655
Fongique	<i>Candida albicans</i>	/	ATCC 10231

#### I.4. Matériels non biologiques

Tous les matériaux, y compris les appareils et équipements, ainsi que les réactifs et produits chimiques, utilisés pour réaliser nos recherches sur l'activité antimicrobienne, antioxydants et anti-inflammatoire, ainsi que pour l'extraction d'huiles essentielles sont notés dans l'annex 1 .

## II. Méthodes

### II.1. Extraction des huiles essentielles

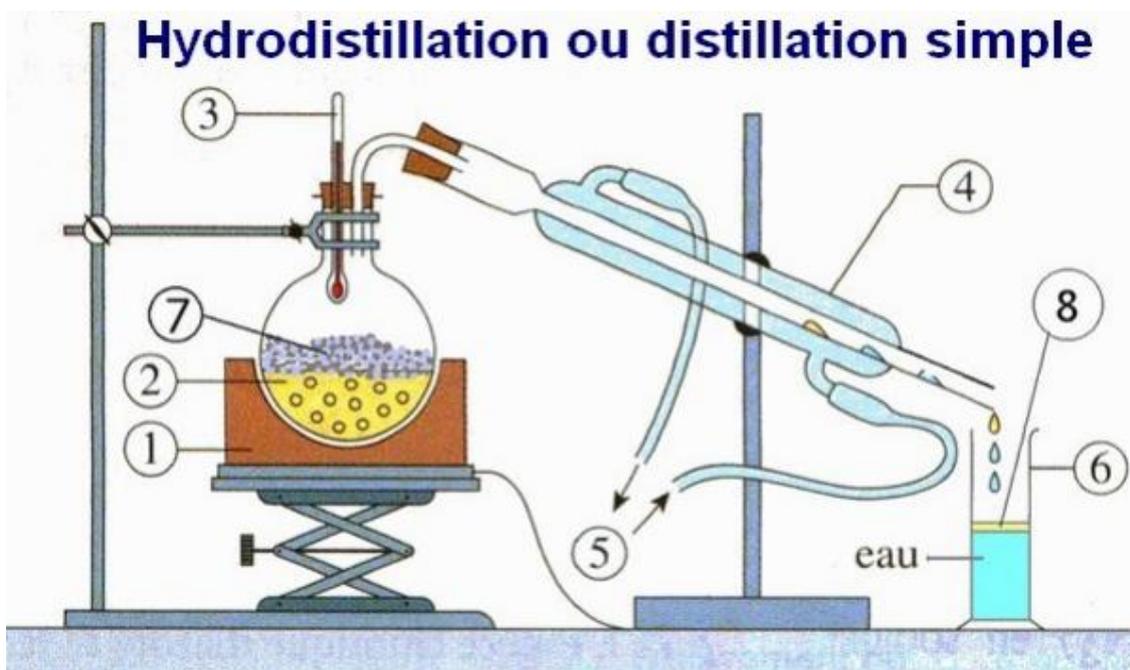
Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif semblable à un alambic (figure 16 ).



**Figure 16** :dispositif d'extraction un alambic

### ❖ Méthode

L'hydrodistillation ( figure 17) représente la technique la plus facile pour extraire les huiles essentielles (Chemat et al., 2012). Elle repose sur le fait de plonger la matière végétale dans un bain d'eau, puis de faire bouillir le tout sous pression atmosphérique (Boutekedjiret et al., 2003). L'éclatement et la libération des molécules odorantes présentes dans les cellules végétales se produisent sous l'effet de la chaleur (Salmieri et al., 2014). L'eau en ébullition s'infiltre dans les cellules des plantes et dissout une partie de l'huile essentielle présente dans ces cellules (Reverchon & De Marco, 2006). La solution aqueuse, contenant des composés volatils, se propage à travers le tissu de l'organe végétal vers la surface externe où l'huile essentielle est vaporisée (Guenther, 1972). Ces molécules aromatiques, en interaction avec la vapeur d'eau, constituent un mélange. À la température d'ébullition, les pressions de vapeurs combinées correspondent à la pression d'évaporation (Adams, 2007). Donc, les huiles essentielles, dont les points d'ébullition oscillent, peuvent être entraînées par la vapeur (Mnayer, 2014).



**Figure 17 :** Montage d'un Hydrodistillation (Jouault, 2012)

1 : Chauffe-ballon ; 2 : Eau bouillante ; 3 : Thermomètre ; 4 : Réfrigérant à eau ; 5 : Arrivée d'eau froide et Sortie d'eau tiédie ; 6 : Essencier ; 7 : Végétal ; 8 : Huile Essentielle.

### ❖ Mode opératoire

Nous avons incorporé le matériel végétal dans l'eau (5 kg de matière végétale fraîchement récoltée pour 10 litres d'eau) dans un alambic, qui est ensuite porté à ébullition.

Après trois heures, les vapeurs d'eau chargée d'huile essentielle, lorsqu'elles traversent le système de refroidissement, se condensent et sont collectées dans une ampoule de décantation. Elles se divisent ensuite en deux phases, aqueuse et huileuse, par différence de densité (figure 18). L'HE a une densité inférieure à celle de l'eau, elle se maintient donc à la surface de l'hydrolat.

Les huiles produites ont été stockées dans de petits flacons en verre, à une température de +4°C et à l'abri de la lumière afin de préserver leurs propriétés.

Note : l'huile essentielle de clou de girofle a une densité supérieure à celle de l'eau



**Figure 18** : phase huileuse et phase aqueuse

#### II.1.1. Calcul du rendement

Selon AFNOR (1986) le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée.

Il est exprimé en pourcentage et se calcule selon la formule suivante :

$$R_{HE} = \left( \frac{M}{M_0} \right) \times 100$$

$R_{HE}$  : Rendement en huile essentielle en pourcentage (%);



$M$  : Masse d'huile essentielle en gramme (g);

$M_0$  : Masse de la matière végétale en gramme (g).

### II.2. Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CGMS

La méthode de la chromatographie en phase gazeuse repose sur le principe de séparation des constituants d'un mélange entre une phase mobile et une phase stationnaire. Cette méthode convient pour des substances relativement volatiles à poids moléculaire faible ou moyen ( $M < 1000$ ) et qui sont thermostables. L'échantillon dissous dans un solvant (ici l'hexane) est introduit dans l'injecteur dans lequel il est vaporisé sous vide en ionisation par impact électronique. Le solvant et les composés sont emportés par le gaz dans la colonne, après leur parcours dans la colonne, ils sont détectés à la sortie de celle-ci par un détecteur.

L'analyse des huiles essentielles est effectuée à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer modèle 680/SQ8, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). La colonne utilisée est Colonne: Rtx-5MS aploaire (30 m / 0.25 mm/ 0.25  $\mu$ m). La température de l'injecteur est de 250°C. Les injections ont été faites en mode Split 50:1. Le volume de la solution injectée est de 1  $\mu$ l. L'hélium pur a été employé comme gaz vecteur à un débit GV: 0.5 ml/min. Le solvant utilisé pour le détecteur de masse est l'hexane avec un délai de 5.9 min. La programmation de la température du four est de 70°C puis elle passe jusqu'à 220°C pendant 15 mn.

Pour le spectromètre de masse, la température de l'interface est de 280°C, celle de la source est de 230°C, avec un type d'ionisation Impact électronique et une intensité du filament de 70  $\mu$ A. La température de l'analyseur de masse (détecteur du type Quadripôle) est de 150°C. L'identification des constituants des huiles essentielles est basée sur la proposition du pourcentage de probabilité de présence du composé fournie par la base de données du micro-ordinateur couplé au spectromètre de masse.

### II.3. Préparation des mélanges des huiles essentielles

En utilisant une micropipette, on prélève 500  $\mu$ l de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* L et 500  $\mu$ l de l'huile essentielle du *Syzygium aromaticum* L, puis on les dépose dans un tube eppendorf recouvert d'aluminium. On reçoit 1 ml d'un mélange contenant 50 % de nos huiles essentielles, et c'est pareil pour les autres huiles essentielles.

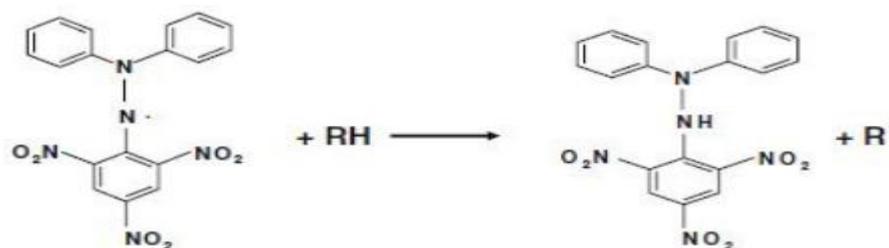
Pour préparer un mélange de 4 huiles essentielles, on utilise 250 $\mu$ l de chaque huile afin d'obtenir 1 ml du mélange à 25% de nos huiles essentielles.

### II.4. Etude du pouvoir anti oxydant des huiles essentielles

L'évaluation de l'activité antioxydant in vitro des huiles essentielles issues de *Thymus Vulgarise L*, *Syzygium aromaticum L*, *géranium rosat* et *citrus limon*, ainsi que leurs mélanges, a été réalisée en mesurant leur capacité à piéger du radical DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl).

#### Principe

D'après Ramadan, (2010) ; Brand-Williams et al., (1995) Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical stable qui détient un électron isolé sur l'atome d'azote. Il montre une absorption spécifique à 517 nm en solution, ce qui lui donne une couleur violette. En présence d'antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H) ( figure 20).



**Figure 19:** Structure de DPPH et mécanisme de sa réduction par un antioxydant (Ramadan, 2010)

#### Mode opératoire

Pour préparer la solution méthanolique à DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) à 0,004% on mélange 4 mg de DPPH violet avec 100 ml de méthanol.

On a préparé la solution mère de chaque huiles essentielle, on dissout 0.25 g de HE avec 25 ml de méthanol.

Concernant la première concentration des solutions mères on prépare 10 $\mu$ l et Nous Continuons avec du méthanol jusqu'à 1 ml. et on répète cette opération dans chaque Concentrations (10 /25/50/100) jusqu'on obtient cinq solutions de différentes concentrations



L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique (la vitamine C) a été également analysée à la même concentration pour comparaison.

### Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est déterminée en appliquant la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{Echantillon}}}{Abs_{\text{contrôle}}} \times 100$$

**Abs** : Absorbance

**Contrôle** : Solution méthanolique à DPPH (0,004%) ;

**Echantillon** : Solution méthanolique à l'huile essentielle ou à la vitamine C.

Pour obtenir l'index IC, on trace les pourcentages du DPPH inhibés à chaque concentration examinée. La valeur de l'indice IC50 est inversement liée à la capacité antioxydant, Plus la valeur de IC50 est faible plus l'activité anti radicalaire sur le DPPH des extraits est efficace. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50 %.

### II.5. Etude du pouvoir antibactérien de l'HE

Afin de mener ces expériences sur la réaction des microorganismes aux huiles essentielles des plantes examinées, nous avons opté pour la technique de diffusion sur gélose connue sous le nom d'aromatogramme, qui est l'équivalent de l'antibiogramme. Dans ce cas, les disques d'antibiotiques sont substitués par des disques de papier Wattman imbibés d'huiles essentielles.

#### II.5.1. Procédure d'opération

Nous avons employé les méthodes mentionnées ci-dessous pour évaluer l'effet antimicrobien des huiles essentielles à examiner.

Il est à noter que pour garantir le succès du travail sur le plan technique, il doit être réalisé dans des conditions de stérilité rigoureuses.

#### Élaboration du milieu de culture

- Faites fondre le milieu de culture gélose Muller Hinton (MH) et gélose Sabouraud (SB) dans un bain-marie à 95°C, puis maintenez la surfusion dans une étuve à 45°C.
- Dans un environnement à flux laminaire, déposez aseptiquement les milieux de culture sur les boîtes de Pétri, en tenant compte de l'épaisseur de 4 mm des boîtes Pétrie.



- Laissez refroidir et se solidifier à température ambiante, puis conservez dans des conditions qui empêchent toute altération.
- Les incubateurs ont été maintenus à 37 °C pendant une période de 24 heures pour les souches bactériennes, et entre 48 à 72 heures pour les souches fongiques.

### **L'inoculum**

- Réaliser une suspension bactérienne et fongique à partir d'une culture jeune de bactérie (18-24) et champignon, prélever quelques colonies isolées et incorporer dans 9 ml d'eau Physiologique.
- Agiter et homogénéiser la suspension manuellement.
- Sept tubes correspondant aux sept souches de bactéries et champignon utilisées ont été Préparés.

### **Ensemencement**

L'inoculation se réalise en suivant les étapes ci-dessous :

- Immergez un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et fongique.
- Essorez-le en le pressant vigoureusement et en tournant sur la paroi interne du tube pour l'évacuer au maximum.
- Frottez l'écouvillon sur toute la surface des milieux secs, de haut en bas, avec des stries serrées,
- Répétez cette procédure trois fois, en inclinant la boîte de Pétri à 30° chaque fois, sans oublier de faire tourner l'écouvillon sur lui-même. Terminez l'inoculation en faisant passer l'écouvillon sur le périmètre du milieu.
- Pour l'inoculation de plusieurs boîtes de pétri, il est nécessaire de recharger l'écouvillon à chaque fois.

### **Dépôt des disques**

- Aseptiquement, prélever un disque de papier buvard stérile de 6mm de diamètre à l'aide d'une pince stérile.
- Entrer en contact avec l'huile essentielle pure pour qu'elle soit absorbée par capillarité à travers le bout du disque.
  - Placer le disque ainsi imprégné d'huile essentielle sur la surface du milieu.
- Disposer sur la même boîte des disques infusés avec l'antibiotique Gentamicine, en s'assurant que les zones d'inhibition ne se superposent pas.



Remarque : cette procédure a été réalisée près d'un bec Bunsen afin de stériliser les outils en les exposant à la flamme.

### **Incubation**

Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 h pour les souches bactériennes, et pendant 48 à 72 h pour les souches fongiques.

### **Lecture**

On effectue la lecture en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un vernier. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis d'HE et d'extraits. L'évaluation de la sensibilité ou de la résistance a été effectuée en fonction du critère suivant :

- Non sensible (-) ou résistant : diamètre inférieur à 8 mm
- Sensible (+) : diamètre situé entre 9 et 14 mm
- Extrêmement sensible (++) : diamètre variant de 15 à 19 mm
- Très sensible (+++): un diamètre supérieur à 20 mm (**Ponceetal, 2003**).

## **II.6. Etude de l'activité anti inflammatoire in VIVO**

### **II.6.1. Procédé expérimentale**

Notre expertise est fondée sur la technique qui implique un essai in vivo : l'œdème d'oreille induit par le xylène (xylène induced ear odema).

### **II.6.2. Répartition des groupes**

Dans le cadre de notre recherche, nous avons constitué 9 groupes de souris( tableau 03) (chaque groupe étant composé de 6 souris d'un poids homogène).

1 lot témoin positif qui a bénéficié d'un traitement anti-inflammatoire standard (Voltarène).

Deuxième lot témoin négatif ayant reçu du xylène.

Les autres lots expérimentaux ont été traités avec une dose de 10 µl d'huiles essentielles pures et différents mélanges.

Le tableau suivant résume la distribution des groupes et les traitements administrés aux souris.

Tableau 03: Répartition des groupes et traitement des souris

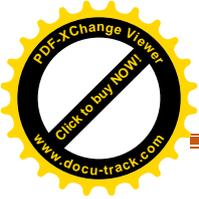
Groupe Expérimentale	Nombre d'animaux	Traitement	Dose de traitement	Application de xylène	Voie d'administration
Contrôle négative	6	HE amande douce	10 ul	+++	Par voie cutané
Contrôle positive	6	voltarène	10 ul	+++	Par voie cutané
EI (expérimental 1)	6	HE thym .v	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 2	6	HE clou g	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 3	6	Géra rosat	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 4	6	Citrus limon	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 5	6	Thyme+ clou	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 6	6	Cl + géra	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 7	6	Cl +Thym	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 8	6	CG + géra	10 ul	+++	Par voie cutané
EI 9	6	M 4 HE	10ul	+++	Par voie cutané

### II.6.3. Induction de l'œdème

Pour provoquer l'œdème de l'oreille, nous avons posé de l' HE sur la partie intérieure et extérieure de l'oreille gauche de chaque souris, en appliquant localement 10 µL à l'aide d'une micropipette. (Figure 19).



Figure 19: application le traitement dans l'oreille gauche de souris



Après 40 minutes, nous avons presque induit une inflammation cutanée sur les faces interne et externe de même oreille de chaque souris en appliquant 10 µl d'une solution de xylène pure. Trois heures après le déclenchement de l'inflammation, les souris ont été sacrifiées par Dislocation cervicale disques d'environ 6 mm ont été prélevés de l'oreille gauche œdémateuse, pesés et comparés à ceux prélevés de l'oreille droite, servant de référence. Ensuite on a calculer le taux d'inhibition de l'inflammation par la formule suivante:

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = \left( \frac{\text{Poids œdème contrôle} - \text{Poids œdème traité}}{\text{Poids œdème contrôle}} \right) \times 100$$

### II.6.4. Anatomie pathologique

#### 1-Principe :

Etudier les tissus et les cellules au microscope afin de détecter les anomalies morphologiques qui sont à l'origine d'une maladie (inflammation, cancer...) et comparer avec le tissu sain pour comprendre ce qui dysfonctionne(Kumar et al., 2020).

#### 2-- Technique d'anatomopathologie :

Nous plaçons les échantillons (oreilles de souris) en cassettes et les soumettons à l'automate de déshydratation pendant 24 heures. -

#### 2.1-Inclusion en paraffine :

Les tissus sont imprégnés de paraffine liquide à 56-58°C, puis ils sont insérés dans un moule rempli de paraffine pour former un bloc solide.

#### 2.2-Sectionnement au microtome

-Réalisation de coupes de 3 à 5 microns d'épaisseur, puis immersion dans l'eau à une température de 37°C.

- Dépose des coupes sur lames.

#### 2.3-Coloration standard

- Déparaffinage (xylene) - Réshydratation (alcool)
- Hématoxyline : coloration des noyaux.
- nettoyage à l'eau



- Éosine : teinture du cytoplasme
- Rinçage à l'eau

### 2.4 - Montage

- Application de la lamelle avec de la résine
- Séchage

## II.6. Activité anti inflammatoire in vitro d'HE

### Stabilisation de la membrane érythrocytaire

#### II.6.1. Principe

Le diclofénac agit en inhibant spécifiquement l'enzyme COX (cyclooxygénase), principalement COX-2, ce qui bloque la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires (Vane & Botting, 1998). En revanche, les huiles essentielles produisent un effet anti-inflammatoire en protégeant contre la dénaturation des protéines et en exerçant une activité antioxydante (Miguel, 2010 ; Boukhatem et al., 2014). Ces effets sont étudiés in vitro grâce à des essais d'inhibition de la dénaturation protéique (Chandra et al., 2012) et par des évaluations du piégeage des radicaux libres dans le sang ou dans divers extraits biologiques, tels que les tests DPPH ou ABTS (Brand-Williams et al., 1995 ; Re et al., 1999).

#### II.6.2. Protocole expérimental

##### a) Préparation des globules rouges

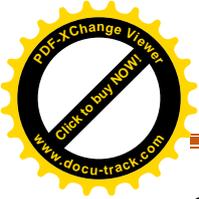
1. Prélever du sang (anti coagulé par EDTA ou héparine) .
2. Centrifuger à 3000 rpm pendant 10 min pour séparer les globules rouges du plasma .
3. Laver 3 fois les globules rouges avec du PBS (pH 7.4) .
4. Suspendre les globules rouges dans du PBS pour obtenir une suspension à 10% v/v .

##### b) Traitement des érythrocytes

1. Dans des tubes à essai

Contrôle négatif : 1 ml de suspension de globules rouges + 1 ml de PBS (sans traitement).

Contrôle positif : 1 ml de suspension de globules rouges + 1 ml de diclofénac (50-100 µg/ml).



## MATERIEL ET METHODE

Groupes test : 1 ml de suspension de globules rouges + 1 ml de différentes concentrations du produit à tester.6. Ajouter 1 ml de solution hypotonique (Na Cl 0,25%) pour induire l'hémolyse.

2. Incuber à 37°C pendant 30 min.
3. Mesure de l'hémolyse
4. Après incubation, centrifuger les échantillons à 3000 rpm pendant 10 min
5. Récupérer le surnageant et mesurer l'absorbance à 540 nm

### **Préparation d'une solution de NaCl à 0,25% (m/v)**

La concentration 0,25% (m/v) signifie 0,25 g de NaCl pour 100 ml d'eau distillée

### **II.6.3. Méthode de préparation**

1. Peser 0,25 g de NaCl sur une balance analytique.
2. Dissoudre dans environ 50 ml d'eau distillée dans un bécher.
3. Mélanger jusqu'à dissolution complète.
4. Compléter le volume à 100 ml avec de l'eau distillée.

Préparer des solutions de (10 µg/ml, 25 µg/ml et 50 µg/ml) à partir d'une solution mère de 75 µg/ml.

Pour cela, on utilise la formule de dilution :

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$



### **II.7. Formulation d'un gel anti inflammatoire**

Les résultats des activités biologiques (activités anti microbiennes , anti inflammatoire , anti oxydants) des différents huiles essentielles étudiées et de leurs mélanges sont intéressants ce qui nous a donné l'idée de formuler un gel anti-inflammatoire à base des huiles essentielles les plus efficaces.

La formule du gel est basée sur les données de l'utilisation traditionnelle et de l'industrie.

Le gel formulé se compose de deux phases , une phase huileuse et une autre aqueuse.

La phase aqueuse est composée d'un gel naturel et d'un hydrolat d'une espèce végétale aromatique.

La phase huileuse contient les huiles essentielles dissoutes dans une huile végétale.



# Résultats et discussions



### I.Rendement des HEs

Le rendement de *citrus limon* présenté en pourcentage (%) est montré dans le (tableau05) suivant :

**Tableau 04:** Rendement de huile essentielle

Espèce végétale	Rendement (%)
<i>Citrus limon</i>	0.32

Ce rendement est inférieur par rapport aux résultats cités par d'autres auteurs. Rega et al (2003) ont signalé des rendements variant entre 1 et 3%. Selon ces auteurs les rendements en huile essentielle chez les *Citrus* diffèrent selon l'espèce.

Le rendement obtenu dans notre travail est plus élevée par rapport aux résultats cités par Ferhat et al (2010), ce dernier, en travaillant sur l'huile essentielle des écorces de *Citrus limon* provenant de la région de Boufarik, a obtenu un rendement de 0.21%.

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment la saison de récolte et les conditions environnementales Hussain et al (2010) ; l'écotype, la phénopase, la température, l'humidité relative, la photopériode, l'éclairement, le génotype et les conditions agronomiques (plantation, date de récolte et densité des cultures (Snoussi et al, 2015).

Les huiles essentielles des trois autres espèces ont été achetées d'une entreprise algérienne de ce fait, les rendements n'ont pas été calculés

Selon la littérature le rendement de *thymus vulgaris* (0.5 % a 2% ), géranium rosat ( 0.1% a 0.3%) , clou de girofle ( 15 % a 18 % ) .

### II.Caractéristiques des huiles essentielles

Les résultats des caractéristiques des huiles essentielles sont mentionnés dans le tableau suivant : ( tableau 05).



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 05:** Caractéristiques des HEs obtenues par hydrodistillation

	<i>HE Thymus V</i>	<i>HE girofle</i>	<i>HE Citrus L</i>	<i>HE géranium</i>
<b>caractéristique</b>	<b>Lés résultats obtenus</b>			
<b>Aspect</b>	Liquide mobile, limpide et visqueux	Liquide mobile, limpide parfois, légèrement visqueux	Liquide mobile	Liquide mobile
<b>Couleur</b>	Jaune pale	Jaune claire	transparent	Jaune pale
<b>Odeur</b>	Forte aromatique et épicée caracterise l'espece	Forte et épicée carcterise l'espece	Fraiche Caracterise l'espece	Forte et Caracterise l'espece
<b>caractéristique</b>	<b>Les Normes( AFNOR ,2000)</b>			
<b>Aspect</b>	Liquide mobile, limpide et visqueux	Liquide mobile limpide parfois, légèrement visqueux	Liquide mobile	Liquide mobile
<b>Couleur</b>	Jaune foncé	Jaune très clair	transparent	Jaune pale
<b>Odeur</b>	Forte, aromatique et épicée	Epicée	Fraiche , citronées	Forte , rosés

Les huiles essentielles obtenue par hydrodistillation de *Thymus vulgaris* présent une couleur jaune foncé, ce caractère est different par rapport à celui decrit par les normes de AFNOR (2000). L'HE des boutons floraux de *Syzygium aromaticum* , et l'HE de *citrus limon* , géranium rosat est conforme aux normes.



### III. Analyses chromatographique des huiles essentielles ( GC-MS)

Les resultats de l'analyse chromatographique des huiles essentielles des quatre especes étudiées sont montrées dans les tableaux suivants:( tableau 06, 07, 08, 09).

#### 1/ clou de girofle

Le résultat de l'identification a montré l'existence de trois composants majeurs qui représentant 96.37% de l'huile l' essentielle avec une quantité plus élevée pour l'eugénol (82.37%). (Tableau 06 ).

**Tableau 06** : composition qualitative et quantitative de huiles essentielle de *S. aromaticum* (%)

TEMPS (MIN)	AIRE	POURCENTAGE (%)	NOM PROBABLE
19.13	773,341,824	82.37	<i>Eugénol</i>
20.86	87,361,904	9.30	<i>Acétate d'eugényle</i>
24.18	44,105,584	4.70	<i>Caryophyllène</i>
AUTRES	~14,000,000	< 1 % chacun	Traces diverses

Le profil chromatographique obtenu par GC-MS révèle une huile essentielle fortement concentrée en eugénol (82,37 %), Chaieb et al.,( 2007) Ce composé, bien connu pour ses propriétés antiseptiques, analgésiques et antifongiques. Pramod et al.,( 2010), constitue le marqueur principal de cette huile. L'acétate d'eugényle (9,30 %), ester dérivé de l'eugénol, renforce le caractère aromatique doux de l'huile et contribue à ses effets anti-inflammatoires (Park et al., 2011). Le caryophyllène représente une teneur non négligeable (4,70 %) (Chaieb et al., 2007). Ce dernier composé est un sesquiterpène aux propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes (Gertsch et al., 2008). Les autres composés détectés à moins de 1 % sont présents à l'état de traces.

#### 2/ *thymus vulgaris*

Le résultat de l'identification a montré que 11 composants représentant 99.997 % de l'huile l'échantillon avec une quantités élevée de thymol (92.28%). (Tableau08 ).



**Tableau 07** : composition qualitative et quantitative des huiles essentielles de *thymus vulgaris* (%)

Temps (min)	Aire	Pourcentage (%)	Composé probable
17.213	298,079,732	<b>92.28%</b>	<b>Thymol</b>
20.834	24,613,221	7.62%	Carvacrol
24.551	108,332	0.03%	Borneol
8.604	38,897	0.012%	p-Cymène
25.806	38,335	0.012%	Terpinéol-4
9.955	38,293	0.012%	$\gamma$ -Terpinène
12.701	11,873	0.004%	Linalol

Le chromatogramme GC-MS met en évidence une huile essentielle fortement dominée par le thymol (92,28 %), un phénol monoterpénique reconnu pour ses puissantes propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques (pramod et al 2010) . Nous notons la présence du carvacrol (7,62 %), un autre composé phénolique aux propriétés similaires, renforce l'efficacité antimicrobienne de l'huile . Les autres composés ne sont présents qu'à l'état de traces (< 0,05 %), parmi lesquels on retrouve notamment des monoterpènes et des alcools comme le bornéol, le p-cymène, le  $\gamma$ -terpinène, le terpinéol-4, ou encore le linalol.

### 3/ *citrus limon*

Le résultat de l'identification a montré que 25 composants représentant 96.93% de l'huile l'échantillon avec une quantité élevée de limonène (53.29%). (Tableau08 )

**Tableau 08** : composition qualitative et quantitative des huiles essentielles de *citrus limon* (%)

Temps de rétention (mn)	Aire	% Composé	Nom du composé
5.93	20 866 602	1.11%	Myrcène
6.38	15 010 325	0.80%	$\alpha$ -Pinène
6.25	7 141 001	0.38%	$\beta$ -Pinène
<b>7.73</b>	<b>997 537 088</b>	<b>53.29%</b>	<b>Limonène</b>



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

<b>7.58</b>	<b>587 151 552</b>	<b>31.36%</b>	<b>β-Phellandrène</b>
7.21	1 073 607	0.057%	Camphène
8.59	84 603 144	4.52%	γ-Terpinène
8.48	41 950 376	2.24%	Terpinolène

L'analyse GC-MS de cette huile essentielle met en évidence une composition majoritairement dominée par les monoterpènes hydrocarbonés. Le limonène est le composé principal, avec une concentration de 53,29 %. Ce monoterpène est bien documenté pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antiseptiques, et est largement utilisé en cosmétique et en aromathérapie en raison de son parfum frais et citronné (Sun, 2007). Le β-phellandrène, présent à hauteur de 31,36 %, renforce l'empreinte olfactive de type agrume et contribue également à l'activité antimicrobienne de l'huile (Bakkali et al., 2008). D'autres composés comme le γ-terpinène (4,52 %), le terpinolène (2,24 %), le myrcène (1,11 %) ainsi que les isomères α- et β-pinène sont également présents. Ces derniers participent non seulement à la diversité aromatique mais aussi aux effets biologiques tels que les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, caractéristiques des essences issues des genres *Citrus* et *Pinus* (Raut & K.aruppayil, 2014)

En comparant nos résultats avec ceux de la littérature, les études menées sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus limon* que ce soit en Espagne, Portugal, Italie, France, Tunisie ou en Maroc sont caractérisées par des teneurs élevés en limonene (56,99-71,87%), myrcene (0,9-1,47%) et le géraniol (0,1-5,43%) ( Dupuy, 2010 ),(Dongmo et al ,2002) .

#### 4/ géranium rosat

Le résultat de l'identification est montré dans le tableau suivant (Tableau 09) .

**Tableau 09:** composition qualitative et quantitative des huiles essentielles de géranium rosat (%)

T de rétention	AIRE	% RELATIF	COMPOSÉ PROBABLE
<b>14.51</b>	<b>185 341 696</b>	<b>31.45%</b>	<b>Citronellol</b>
<b>15.39</b>	<b>86 810 208</b>	<b>14.73%</b>	<b>Géraniol</b>
16.06	81 100 264	13.76%	Linalol
26.88	48 367 120	8.21%	10-epi-γ-Eudesmol (ou sesquiterpène)



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

16.96	32 590 034	5.53%	Citronellyl formate
25.04	14 065 450	2.39%	Isomenthone
25.83	13 644 483	2.32%	Formate de géraniole
23.17	11 996 209	2.04%	Eudesmol
19.69	11 052 423	1.88%	$\alpha$ -Terpineol

Cette huile essentielle est principalement composée de citronellol (31,45 %), qui apporte une odeur florale douce et possède des propriétés calmantes et antibactériennes (Bakkali et al., 2008). Ensuite, on retrouve du géraniole (14,73 %), au parfum légèrement rosé, connu pour ses effets antifongiques et répulsifs contre les insectes (Raut & Karuppaiyil, 2014), ainsi que du linalol (13,76 %), aux notes fraîches et relaxantes (Peana et al., 2002). Ces trois composés sont typiques des huiles de géranium rosat. D'autres molécules sont également présentes, comme :

Le 10-epi- $\gamma$ -eudesmol (8,21 %), un sesquiterpène au parfum boisé, avec des propriétés anti-inflammatoires (Bakkali et al., 2008), le formiate de citronellyle (5,53 %) et le formiate de géraniole (2,32 %), qui ajoutent une touche douce et fruitée à l'huile (Lis-Balchin, 2002)

, des composés comme isomenthone (2,39 %), qui renforcent les arômes mentholés et floraux (Raut & Karuppaiyil, 2014), Le eudesmol (2,04 %) et l' $\alpha$ -terpinéol (1,88 %), aux effets désinfectants et tonifiants (Peana et al., 2002).

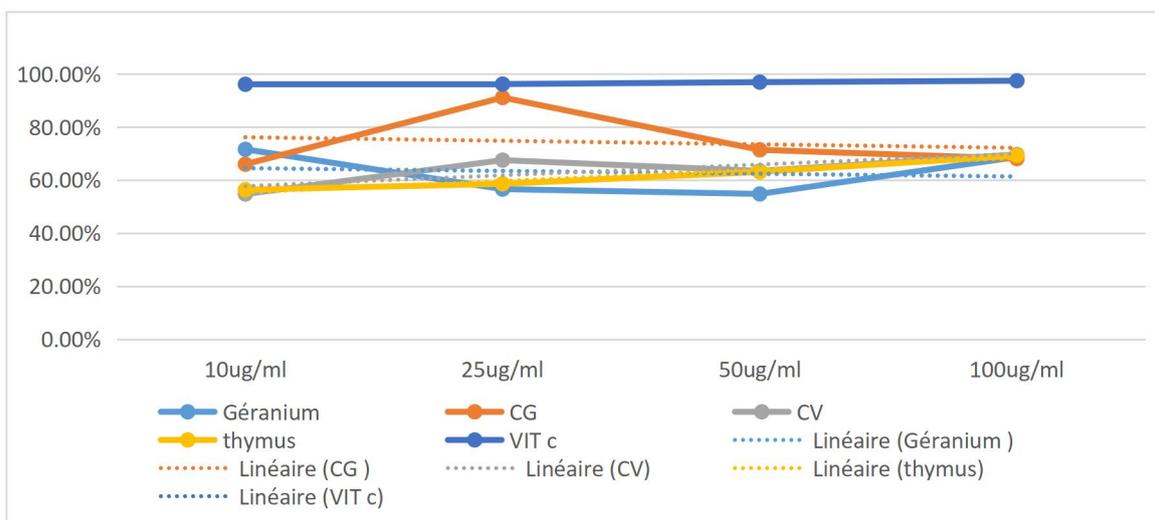
L'huile essentielle du *P. graveolens* de Tunisie a révélé que le citronellol (27,53%) et le géraniole (25,85%) étaient les principaux composants (Ben Hsouna & Hamdi, 2012). Les composés dominants d'HE Algérien de *P. graveolens* étaient le citronellol (30,2% et 19,22%) et le géraniole (7,6% et 14,03%) respectivement (Boukhatem et al., 2013 ; Atilia & Djahoudi, 2015). Chraïbi et al. (2019) ont rapporté que les principaux constituants d'HE de *P. graveolens* étaient dominées par le citronellol (26,98 %) et le géraniole (14,12 %), tandis que Moutaouafiq et al. (2019) ont suggéré que la  $\beta$ -thuyone et le chamazulène étaient les principaux composants.



### IV . Pouvoire anti oxydants des huiles essentielles

L'évaluation du pouvoire antioxydant de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris L* , l'HE de clou de girofle et géranium rosat , citrus limon ( figure 21 ) de leur mélange( figure 22) a été réalisée en utilisant la méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

Les résultats de obtenus sont montrés dans( la figure 21).



TV : *Thymus vulgaris*/ CG : clou de girofle / VIT C : la vitamine C ; géra : géranium

**Figure 21** Pourcentage d'inhibition du DPPH par les HEs étudiées et par la vitamine C en fonction des différentes concentrations

Les extraits étudiés ont montré une activité antioxydante importante . Tous les huiles essentielles ont induit une inhibition supérieure à 50 % dès la concentration la plus faible testée (10 µg/ml). Cette forte activité à une concentration aussi faible démontre un pouvoire antioxydant élevé des HE, capables de neutraliser efficacement les radicaux libres à faible dose. Par conséquent, la concentration inhibitrice 50 (IC50) est estimée inférieure à 10 µg/ml. Certains HE , notamment celui de CG, présentent un pic d'activité à 25 µg/ml, indiquant une efficacité maximale à cette dose, sans perte d'activité notable aux concentrations supérieures et l'activité antioxydante du Géranium est élevée à faible concentration, baisse à 25-50 µg/ml puis remonte à 100 µg/ml, suggérant une possible variation liée à la concentration, sans tendance linéaire simple.

le *Citrus limon* montre une activité antioxydante modérée, avec une légère oscillation selon la concentration, sans baisse nette à forte dose. L'activité antioxydante du thymus augmente



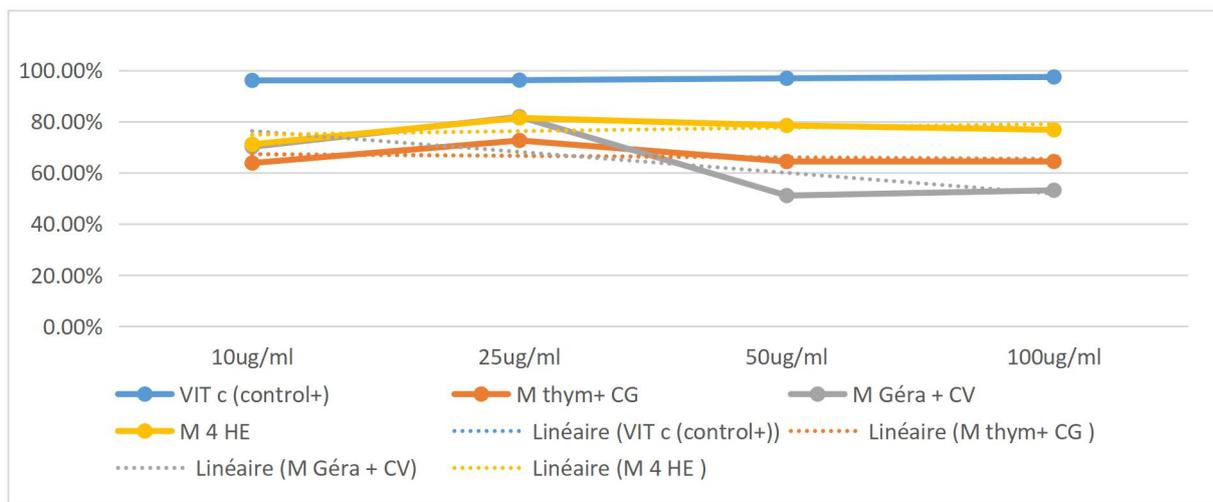
## RESULTATS ET DISCUSSIONS

régulièrement entre (56% - 69%) avec la concentration, montrant une réponse dose-dépendante classique.

Nos résultats sont en accord avec ceux déjà publiés qui ont montré que les écorces de citron représentent la fraction la plus riche en polyphénols, laquelle a révélé un potentiel antioxydant puissant (Bacco et al., 1998 ; Gorinstein et al., 2001).

L'activité anti-oxydante de l'HEs testées est probablement liée aux composants majoritaires qui sont principalement les monoterpènes notamment le limonène, le <sup>3</sup>-pinène et le <sup>1</sup>-terpinène (Misharina et Samusenko, 2008). Selon Tang et al., (2001), le <sup>3</sup>-pinène et le limonène présentent des propriétés anti-oxydantes importantes ; ils ont minimisé le taux normal d'une réaction chimique d'oxydation en piégeant le radical hydroxyle.

D'après Hellal (2011) ; l'HE de *Citrus limonum* a réduit de manière significative l'oxydation des lipides de la sardine, qu'elle constituerait une solution alternative aux conservateurs synthétiques dans le domaine agro-alimentaire.



**Figure 22** Pourcentage d'inhibition du DPPH par les Mélanges des HEs étudiées et par la vitamine C en fonction des différentes concentration

L'analyse de l'activité antioxydante des mélanges d'huiles essentielles( figure), évaluée par la méthode DPPH, a permis de mettre en évidence des profils d'efficacité variables selon la composition et la concentration. Le témoin, la vitamine C, a montré une activité constante et très élevée à toutes les concentrations testées, dépassant systématiquement 96 % d'inhibition du radical DPPH, ce qui confirme la fiabilité du test. Parmi les mélanges, la formulation "M 4 HE", combinant quatre huiles essentielles, a présenté une activité antioxydante notable,



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

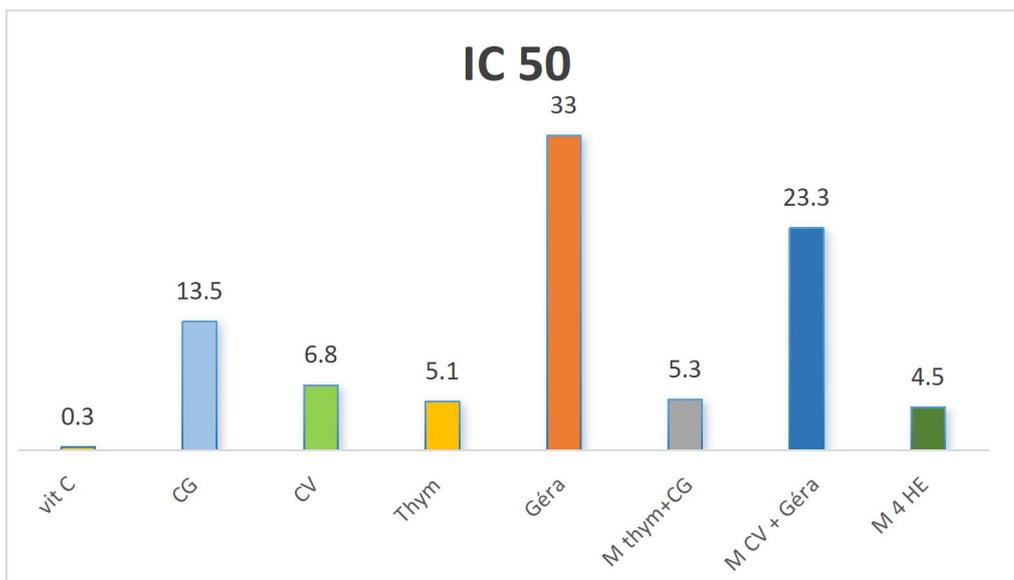


particulièrement à 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  avec 81,47 % d'inhibition, et une stabilité aux concentrations plus élevées, il semble, de ce fait, qu'il existe une synergie entre les composés actifs. Le mélange "M Géra + Cl" a montré un résultat intéressant, avec une forte activité à 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (81,91 %), suivi d'une chute significative au-delà de cette concentration avec une valeur de pourcentage d'inhibition de 51 % à 50 % 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . En revanche, le mélange "M thym + CG" a offert une activité antioxydante plus modeste, oscillant entre 63 et 72 %, sans grande variation entre les différentes concentrations. Bien que le clou de girofle seul ait montré une très forte activité dans les tests précédents, cette diminution peut s'expliquer par la dilution de ses composés phénoliques notamment l'eugénol, ou par une interaction limitante avec les composés du thym. Selon Tepe et al. (2005) et Ozen et al. (2011), ceci peut s'expliquer par la présence des composés phénoliques dans les HEs qui peuvent interagir d'une façon synergique ou additionnelle pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres.

Des études de l'équipe du Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles où l'application par vaporisation en surface des aliments, contribue à les préserver des phénomènes d'oxydation (Caillet et Lacroix, 2007). Parmi ces huiles, les huiles essentielles des Citrus. Elles sont caractérisées par une teneur élevée en monoterpènes dont le d-limonene est le constituant majeur, jouant un rôle principal dans l'activité anti-oxydante (Girenavar et al., 2007 ; Buchbauer, 2010).

L'inhibition radicalaire du DPPH est généralement présentée par la valeur IC<sub>50</sub>, celle-ci est la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH présent dans le milieu réactionnel. Les pourcentages d'inhibitions nous ont permis de calculer ce dernier en traçant les régressions linéaires (figure 23).

## RESULTATS ET DISCUSSIONS



Vit C : vitamin C / CG: clou de girofle /CV: citrus limon vert / Thym : thymus vulgaris/ Géra : géranium / M : mélange

**Figure 23:** Valeurs d'IC50 des HEs et des mélanges étudiées et de la vitamine C

Les huiles essentielles des *Thymus vulgaris L*, *clou de girofle* et *géranium rosat*, *citrus limon* et les mélanges et la vitamine C ont pu réduire le radical DPPH de manière significative, avec des valeurs de IC50 variant de 4.5 µg/ml (M 4 HE) à 33 µg/ml (GR).

L'huile essentielle de *Thymus* possède la plus forte activité antioxydante par rapport aux autres HEs pures testées (IC50 = 5.1 µg/ml), mais elle reste inférieure à celle de la vitamine C (IC50 = 0.3 µg/ml).

Le mélange de 4 Huile essentielles possède la plus forte activité antioxydante par rapport aux autres Mélanges HEs testées (IC50 = 4.3µg/ml), mais elle reste inférieure à la vitamine C (IC50 = 0.3 µg/ml).

Selon les résultats de Guerfa et Ounaissia (2015), l'HE de *Thymus* montre une activité moins élevée (IC50 = 254.34 µg/ml) par rapport à la vitamine C (IC50 = 117.79 µg/ml). Selon Ismaili et al. (2017), l'HE de *Thymus vulgaris L* est douée d'une activité antioxydante plus élevée que l'acide ascorbique avec des valeurs d'IC50 de 4.57 µg/ml, 44.18 µg/ml respectivement.

Les résultats montrent que les huiles essentielles de *Citrus limon* (6,8 µg/mL) et de clou de girofle (13,5 µg/mL) présentent une activité antioxydante élevée, avec des IC50 relativement faibles traduisant une capacité notable à piéger les radicaux libre selon les études



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

de Kehal (2013) ont trouvé que la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50) des HE de citron (*Citrus limon*) est de l'ordre de 5.5 µg/ml.

À l'inverse, l'huile essentielle de géranium se caractérise par une IC50 plus élevée (33 µg/mL), indiquant une activité non négligeable mais plus faible par rapport aux autres huiles essentielles étudiées. Les mélanges thym + clou de girofle (5,3 µg/mL) et le mélange des quatre huiles essentielles (4,5 µg/mL) montrent une meilleure activité antioxydante, suggérant un effet synergique entre les huiles. En revanche, le mélange *citrus limon* + *géranium* (23,3 µg/mL) présente une efficacité réduite, probablement en raison d'un effet antagoniste lié à la présence du *géranium*. Ces résultats confirment que certaines associations d'huiles essentielles peuvent potentialiser leur activité antioxydante.

L'huile essentielle *thymus satureioides* obtenue par hydrodistillation dans le travail de Kasrati et al. (2014) a donné des valeurs similaires aux notre avec une IC50 de 184 µg/ml dans le test du DPPH et une Cab0,5 de 142 µg/ml dans le test de FRAP. El-Bakkal et al. (2020) ont trouvé pour l'huile essentielle obtenue par entrainement à la vapeur d'eau des valeurs deux fois meilleurs, respectivement 84,53 et 60,32, alors que Taoufik et al. (2017) ont obtenu une faible efficacité dans le test du DPPH (IC50 = 810µg/ml).

### V. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

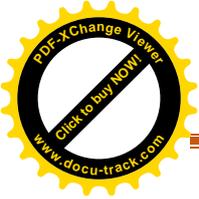
Nous avons testé l'activité antimicrobienne des huilles essentielles de *Thymus vulgaris L*, *clou de girofle*, *citrus limon*, *géranium rosat* et vis-à-vis cinq souches bactériennes et une souche fongique par la méthode de diffusion sur disques. Les résultats obtenus sont montrés dans les figures dans( lannex 2 )et le tableau (10) ci-dessus

**Tableau 10:** Zones d'inhibitions (Zi) des huiles essentielles en mm

SM	CG p	CL p	TV p	GR p
E C	15	0	30	10
Bc	25	40	45	17
Ps	14	0	24	0
St	21	12	45	16
Sa	15	0	32	1,85
Ca	32.01	9,44	47.22	22.58

SM: souche microbienne, Ec: *Escherichia coli*, P: *Pseudomonas aeruginosa*, Sa: *Salmonella aboney*, St: *Staphylococcus aureus*, Bc: *Bacillus cereus*, Ca: *Candida albicans*, TV: *Thymus vulgaris*, CG: clou de girofle, CL : *citrus limon*, GR : *géranium rosat*, p: pure

● : souche résistatnte, ● : souche sensible, ● : souche extrêmement sensible, ● : souche très sensible



### 1. Effet sur les bactéries Gram positif

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles vis-à-vis des bactéries Gram positives a montré des disparités notables en fonction du type d'huile examinée vis-à-vis des bactéries Gram positives ( tableau 10) . L'huile essentielle pure de *Thymus vulgaris* (TV p) a démontré une efficacité supérieure, présentant des zones d'inhibition élevées ( 45 mm) contre *B. cereus* et *Staphylococcus aureus*. suivi de l'huile essentielle de Citrus limon pure (CL p) , en inhibant *B. cereus* à 40 mm et *Staphylococcus* à 12 mm, révélant une activité plus ciblée sur *B. cereus*. L'huile de clou de girofle pure (CG p) a aussi démontré une efficacité notable, avec une inhibition mesurée à 25 mm sur *B. cereus* et 21 mm sur *Staphylococcus*. Pour comparaison, l'huile de *géranium rosat* pure (GR p) montre une activité plus modeste, avec 17 mm et 16 mm respectivement.

Certaines études ont montrées que les bactéries Gram négatifs apparaissent plus résistantes que les Gram positifs vis-à-vis des huiles essentielles grâce à la structure de leur membrane externe (Mebarki, 2010). Des résultats similaires ont été obtenus par( Ettayebi et al. 2000), qui ont montré que l'activité de l'huile de thym a été plus efficace contre les bactéries G+ que les G-. l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de C. limon à la présence des composants volatils dans la composition de l'huile comme le limonène, linalol, 3-Pinene, (Rodov et al., 1995 ; Alma et al., 2004 ; Tepe et al.,2005).

Selon Atailia & Djahoudi (2015), Cette étude a montré une très forte activité inhibitrice contre les bactéries Gram-négatives (*Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*), mais n'avait aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-positif).

Atmani H., et al ( 2015) ont également montré dans leurs travaux que le *staphylococcus aureus* était très sensible à l'huile essentielle du clou de girofle et avait des zones d'inhibitions plus grandes comparées aux autres bactéries Gram+. Les résultats obtenus par Dulal S., et al., (2021) ont montré des résultats semblables aux nôtres c'est-à-dire une efficacité satisfaisante de l'huile essentielle du clou de girofle à l'égard du *Staphylococcus aureus*.

### 2. Effet sur les bactéries Gram négatif

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sur les bactéries Gram négatives met en évidence une efficacité plus variable comparée aux Gram positives, en raison de la présence de la membrane externe lipopolysaccharidique qui agit comme barrière. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pur (TV p) s'est montrée la plus performante, inhibant



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

*Escherichia coli* à 30 mm, *Pseudomonas aeruginosa* à 24 mm et *Salmonella* spp. à 32 mm, démontrant ainsi un large spectre d'action même sur des souches résistantes. L'huile de *Citrus limon* pur (CL p) inactive sur *E. coli* et *Pseudomonas* et *salmonella* spp (0 mm). l'huile essentielle du Clou de girofle pur (CG p) montre une activité modérée sur *E. coli* (15 mm) et *Pseudomonas* (14 mm), mais plus marquée sur *Salmonella* (15 mm). En revanche, L'huile de *Géranium* pur (GR p) est faiblement active, avec des diamètres d'inhibition de 10 mm sur *E. coli*, 1,85 mm sur *Salmonella*, et aucune inhibition de *Pseudomonas* (0 mm), selon Dorman et Dreans (2000) ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne contre 25 genres de bactéries testées. Aussi, des études réalisées par l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1999) ont également montré que ce constituant possède une forte activité antifongique et antibactérienne contre de nombreuses espèces y compris les bactéries étudiées.

Dans notre présente étude, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du clou de girofle pourrait être attribuée à son composé majoritaire qui est « l'eugénol ». Valero., et al., (2006), démontré dans leur travaux que l'eugénol est à l'origine de l'inhibition de la croissance des bactéries.

### 3. Effet anti fongique

L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles testées contre *Candida albicans* a révélé une sensibilité marquée de cette levure à la majorité des extraits (figure 11). L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pur (TV p) s'est avérée la plus efficace, avec une zone d'inhibition de 47,22 mm, traduisant une forte activité fongicide, probablement liée à sa richesse en thymol et carvacrol, qui perturbent la membrane cellulaire des levures (Burt, 2004). Les huiles essentielles du *Citrus limon* (CL p) (9,44 mm), et Clou de girofle pur (CG p) (32,01 mm) se caractérisent par une bonne activité mais plus faible par rapport à celle du thymol. L'huile essentielle du *Géranium* (GR p) montre une bonne activité contre *Candida albicans* (22,58 mm) mais plus faible par rapport aux huiles essentielles citées précédemment, ce qui reflète une affinité des monoterpènes oxygénés (comme le citronellol) avec les membranes fongiques. Ainsi, toutes les huiles testées ont présenté une activité antifongique notable, avec une efficacité maximale pour le thym. Selon Cheurfa et al., (2013), l'huile de *Thymus vulgaris* L montre une activité antibactérienne intéressante contre les bactéries Gram+ ainsi que contre les bactéries Gram -, cependant, une étude réalisée par Yakhlef et al., (2011) montre que les souches de *Staphylococcus aureus* à Gram positif sont les plus sensibles au *thymus vulgaris* que les autres souches bactériennes testées. L'efficacité de l'HE de *T.*



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

*vulgaris* est liée à l'action de ses composants chimiques (thymol et carvacrol) qui y sont majoritaires, car, le thymol est très utilisé pour ces activités antiseptiques, anti bactériennes, anti fongicides et anti inflammatoires (Baba Aissa, 2011) et le carvacrol est un isomère du thymol, présent dans de nombreuses plantes aromatiques (Zacharias et al.,2013).

Les études de Boukhatem et al. (2013), ont montrés que l'HE de *P.graveolons* présentait le plus fort effet d'inhibition contre *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C.krusei* , *C.lipolytica*, *C.tropicalis*, *C. sake* et *Rhodotorula glutinis*. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature pour d'autres huiles de *géranium rosat* riches en géraniol, et qui ont montrés une action très forte contre *C. tropicalis* et *C. albicans* (Hassan et al., 2011).

Nous avons testé l'activité antimicrobienne des mélanges d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L+ clou de girofle , *citrus limon* + *géranium rosat* vis-à-vis cinq souches bactériennes et une souche fongique par la méthode de diffusion sur disques. Les résultats obtenus sont montrés dans les figures dans (l'annex2) et le tableaux ci-dessus( tableau11) .

**Tableau 11 :Diametre des zones d'inhibition ZI de mélanges des huiles essentielles**

SM	M CI + GR	M CG + TV	M 4 HE
E C	0	31.27	10.49
Ba	30.57	73.41	49,25
Ps	0	20,16	13,97
St	9,18	26,4	16,47
Sa	0	43,36	10,96
Ca	17.25	37,22	30.16

SM: souche microbienne, Ec: *Escherichia coli*, P: *Pseudomonas aeruginosa*, Sa: *Salmonella aboney*, St: *Staphylococcus aureus*, Bc: *Bacillus cereus*, Ca: *Candida albicans*, M TV+CG: mélange thymus et clou de girofle , M CI + GR : mélange citrus limon et géranium rosat , M 4 HE : mélange de 4 huile essentiels

● : souche résistatnte , ● : souche sensible , ● : souche extremement sensible , ● : souche très sensible

### 1.Effet des mélanges sur les Gram +

Les résultats obtenus ( figure 12) montrent que le mélange Thym + Clou de girofle (M CG + TV) est le plus actif contre les bactéries Gram positives, avec des zones d'inhibition de 73,41 mm pour *Bacillus cereus* et 26,4 mm pour *Staphylococcus*. Le mélange des quatre huiles essentielles (M 4 HE) se caractérise par une bonne activité mais légèrement plus faible que le premier mélange avec des diaùmetres d'inhibition de 49,25 mm sur *Bacillus* et de 16,47 mm sur *Staphylococcus*. Le mélange *Citrus limon* + *Géranium rosat* (M CI + GR) présente une activité plus faible, mnrtrant des diametres d'inhibition d 30,57 mm sur *Bacillus*



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

et de 9,18 mm sur *Staphylococcus*. Nous distinguons que la souche *Bacillus cereus* est plus sensible que *Staphylococcus*, ce qui indique une meilleure efficacité des mélanges testés sur cette souches.

### 2.Effet des mélanges sur les Gram-

Concernant les bactéries Gram négatives, le mélange Thym + Clou de girofle (M CG + TV) montre ( figure 12) les meilleures zones d'inhibition avec des diametres de 31,27 mm sur *E. coli*, , de 20,16 mm sur *Pseudomonas aeruginosa* et de 43,36 mm sur *Salmonella*. Le mélange des quatre huiles essentielles (M 4 HE) présente une activité modérée avec 10,49 mm sur *E. coli*, 13,97 mm sur *Pseudomonas* et 10,96 mm sur *Salmonella*. Le mélange *Citrus limon* + *Géranium* (M Cl + GR) n'a montré aucune activité sur *E. coli*, *Pseudomonas* et *Salmonella*, avec des zones d'inhibition nulles. Ces résultats indiquent que seul le mélange Thym–Girofle exerce une action marquée sur les trois souches Gram négatives testées.

### 3.Effet anti fongiques des mélanges

En ce qu concerne la levure *Candida albicans*, tous les mélanges testés présentent une activité inhibitrice( figure 12). Le mélange Thym + Clou de girofle (M CG + TV) donne la plus grande zone d'inhibition avec 37,22 mm, suivi par le mélange des quatre huiles essentielles (M 4 HE) avec un diametre d'ihnibition de 30,16 mm. Le mélange *Citrus limon* + *Géranium* (M Cl + GR) montre une activité plus faible avec une zone d'inhibition de 17,25 mm. Ces résultats indiquent que *Candida albicans* est sensible à tous les mélanges, avec une efficacité maximale pour le mélange Thym–Girofl . Pinto et al. (2006) ont rapporté que les HES du *Thymus vulgaris* contiennent une quantité importante en phénols, présente un large spectre d'activité sur les fongique et levures. Le thymol et carvacrol sont responsable de l'activité fongicide (Bennis, Skandamis et al., 2004) ,(Cox, Mann et al., 2000),( Lambert, Skandamis et al., 2001) ; (Walsh, Maillard et al., 2003).

## VI . Activité anti inflammatoire

### VI.1. In vivo (test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris) :

L'étude a été élaborée pour examiner l'effet anti-inflammatoire des huiles essentielles de quatre espèces aromatiques, ainsi que leurs divers mélanges, sur un modèle animal en induisant une inflammation aiguë à l'oreille gauche par le xylène. Les résultats obtenus sont montrés dans le (tablau 12)suivant:



## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 12** : Effet inhibiteur des 4 HE et des différents mélanges sur l'œdème d'oreille induit par le xylène

Groupe de souris	Traitement	Pourcentage d'inhibition de l'inflammation
01 (reference)	Témoin (-) : Xylène	0%
02	Témoin (+) : " Voltarène"	20%
Traitement avec les HE		
03	HE (cg)	15.42 %
04	HE (thym)	0%
05	HE (c l)	26.85 %
06	HE (géra)	25.71 %
Traitement avec les mélanges		
07	HE (cg + géra)	5.14 %
08	HE (c l + géra)	0%
09	HE (cg + thym)	28.57 %
10	HE (c l + thym)	0%
11	HE (c l + thym + cg +géra)	21%

En examinant ces résultats, nous notons un gonflement et une augmentation du poids de l'œdème après application locale du xylène, et cela due à la migration des leucocytes et l'infiltration des neutrophiles au niveau des tissus de l'oreille (Ravelo- Calzado et al., 2011).

Ces effets sont dus à une réaction inflammatoire aiguë provoquée par le xylène. Celui-ci agit comme un agent irritant, déclenchant une cascade inflammatoire locale (Benson et al, 1999).

Le xylène stimule les cellules résidentes des tissus, telles que les mastocytes, les macrophages et les cellules épithéliales, à libérer des médiateurs pro-inflammatoires comme l'histamine, les prostaglandines et diverses cytokines. Cette libération contribue à l'amplification de la réponse inflammatoire locale, entraînant rougeur, œdème et sensation de brûlure au site d'exposition (Zhang et al., 2023).

Il en résulte une accumulation de liquide dans le tissu interstitiel, phénomène appelé œdème. Cette accumulation est à l'origine du gonflement visible de la zone affectée et, dans des modèles expérimentaux comme celui de l'oreille de souris, elle se traduit par une augmentation mesurable du poids de l'oreille (Deyoung et al, 1989).



### Traitement avec les huiles essentielles

Nous avons observé une réduction du poids des oreilles chez les souris des groupes traités n° 5, 6 et 3 avec les huiles essentielles (cl , géra, cg) comparativement au groupe témoin négatif et le positif n°1, n° 5. Ce qui a entraîné une baisse d'inflammation de 26,85 %, 25,71 % et 15,42 % respectivement, comme précisé dans le tableau précédent.

Ceci pourrait être attribué à l'efficacité des principes actifs de chaque plante (citrus limon , *géranium rosat* et *clou de girofle*) qui ont également aidé à diminuer les indicateurs pro-inflammatoires.

Il convient de préciser que l'huile essentielle du thymus vierge n'a pas effectué un rôle significatif dans la suppression de l'inflammation.

### Traitement par les mélanges des HE

Le tableau montre que le mélange (cg + thym) présente le taux d'inhibition le plus élevé avec une valeur de 28,57 %, ce qui a mené à une baisse notable du taux d'inflammation chez le groupe de souris n° 9 ; par rapport au mélange des (4 HE , c l + thym , cg + géra et c l + géra) au Voltarène et comparativement avec les autres huiles essentielles vierge.

Une inhibition de la cyclooxygénase-2 (COX-2) : Les HE de thym et de clou de girofle ont montré une capacité à inhiber l'expression de COX-2, une enzyme clé dans la production de prostaglandines pro-inflammatoires. Cette inhibition suggère un potentiel dans la gestion de l'inflammation aiguë et chronique ( zhang et al , 2024)

Modulation des cytokines inflammatoires : Le thymol, principal constituant du thym, a démontré une réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- $\alpha$ , IL-6 et IL-1 $\beta$  dans des modèles cellulaires et animaux (yeddes et al ,2022).

Les deux HE ( clou de girofle et thymus vulgaris ) possèdent des propriétés antioxydantes significatives, contribuant à la neutralisation des radicaux libres et à la réduction du stress oxydatif, un facteur clé dans les processus inflammatoires (Hotta et al , 2020).

Ceci explique la présence de L'effet synergique qui est souvent recherché dans la fabrication des remèdes à base de plantes, car il peut maximiser les bénéfices tout en réduisant les effets secondaires.



Selon Wagner et Ulrich-Merzenich (2009), la synergie peut se manifester à différents niveaux : amélioration de la biodisponibilité, modulation de cibles pharmacologiques multiples, ou encore réduction de la toxicité par équilibre des effets secondaires. Par exemple, l'association entre la curcumine (extrait du *Curcuma longa*) et la pipérine (extraite du *Piper nigrum*) illustre bien ce phénomène : la pipérine améliore significativement la biodisponibilité de la curcumine, augmentant ainsi son efficacité thérapeutique (Shoba et al., 1998).

Ce principe de synergie justifie le recours fréquent à des extraits complets ou à des mélanges de plantes dans la médecine traditionnelle, car les divers composants présents dans une plante peuvent interagir de manière complémentaire. La complexité des extraits végétaux rend toutefois l'étude précise de ces interactions difficile, mais les avancées récentes en pharmacognosie et en analyses omiques (métabolomique, transcriptomique) permettent d'en explorer les mécanismes plus finement (Williamson, 2001).

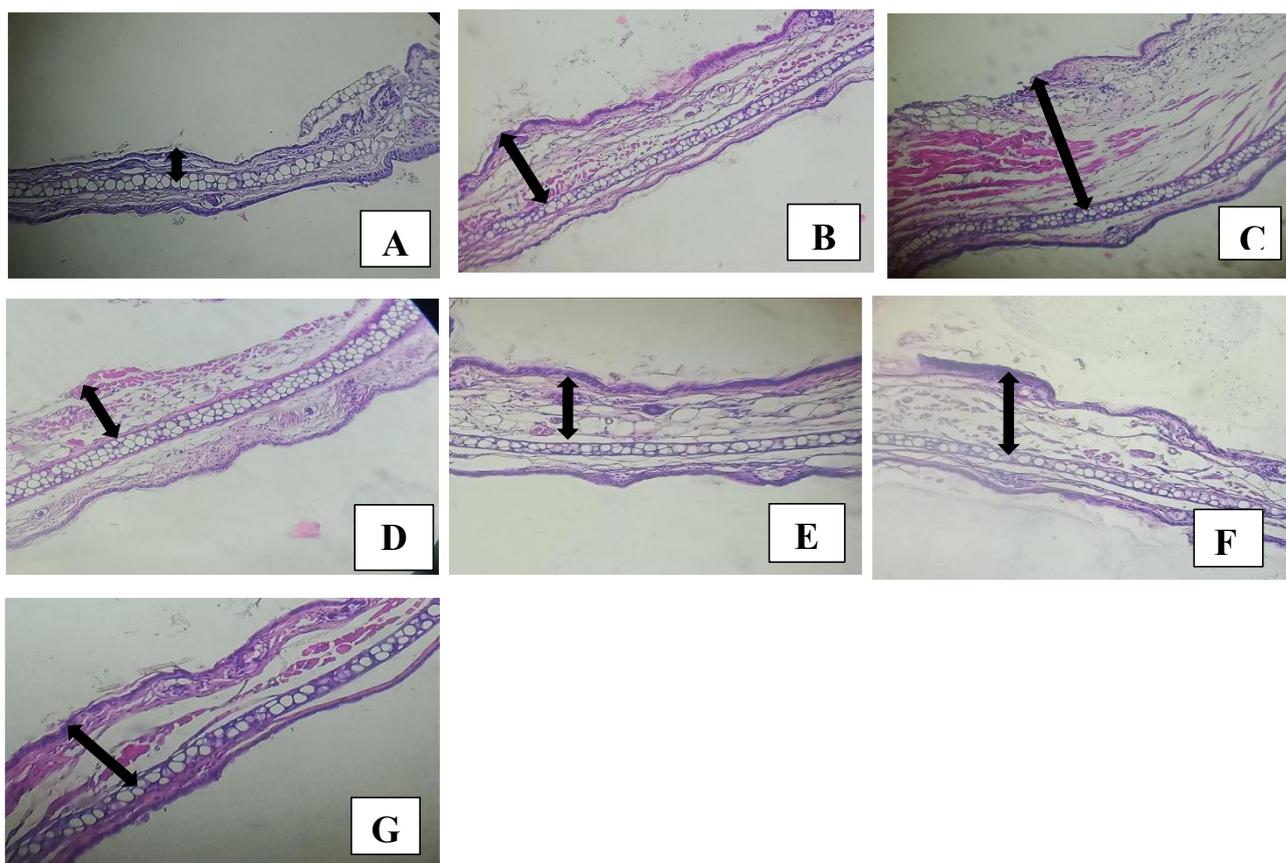
En ce qui concerne les mélanges (cl + géra; cl + thym; 4 HE) , les résultats obtenus ont montré que les pourcentages étaient nulles (0%). Cela peut être expliqué par le fait, qu'ils ont contribué à l'induction de l'inflammation, semblable à celle du xylène.

### **Traitement avec Voltarène**

À travers nos expériences, nous avons constaté que le pourcentage d'inhibition de l'inflammation avec l'utilisation de "Voltarène" était négligeable ( 20 % ), ce qui nous permet de l'écarter au profil de l'efficacité du mélange (cg+ thym) ; cela a été démontré par l'augmentation du poids et de la taille des oreilles chez les souris du second groupe ; par rapport à celle du groupe de souris n° 9 (Tableau 1).

### **Résultats de l'anatomie pathologique**

Les tissus d'oreilles de souris après application des huiles essentielles et induction d'une inflammation ont été analysés afin d'observer les effets anti -inflammatoires au niveau cellulaire .Les meilleurs résultats obtenus sont montrés dans la (figure 24) suivant



A: oedem ocile sans traitement / B: voltarène / C : xylene / D: M CG+thym / E: citrus limon / F : géranium / G : M 4 HE

**Figure 24 :** résultat de lanapath prés lobservation de microscope .

## VI.2. Activité anti inflammatoire in vitro

### 1. Evaluation de la protection contre l'hémolyse (stabilisation membranaire)

L'activité anti-hémolytique des huiles essentielles est évaluée en induisant une hémolyse par une solution hypotonique, qui provoque une désorganisation de la membrane des globules rouges, entraînant ainsi la libération de l'hémoglobine. La capacité des huiles essentielles à stabiliser la membrane érythrocytaire dans ces conditions indique un effet protecteur membranaire, lié à leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Shinde, et al, 1999), (Yadav, et al. 2013). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 14 suivant

Nous rappelons que les valeurs des pourcentages d'inhibition de l'hémolyse représentent les concentrations équivalentes en Diclofenac ( tableau 13).

**Tableau 13:** résultats de pourcentage d'inhibition de l'hémolyse par rapport la concentration équivalente en diclofénac ug/ml .

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Espece	DO mesurée	Concentration équivalente en diclofénac (ug/ml)	Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse
HE Thymus v+clou g	0.3694	71.53	65.18%
HE <i>Thymus vulgaris</i>	0.4074	66.65	61.60%
HE clou de girofle	0.4188	65.19	60.52%
Mélange de 4 HE	0.6074	41.01	42.75%
HE Citrus + Géranium	0.9020	3.24	14.99%
HE de Géranium	0.9183	1.15	13.54%
HE de Citrus	1.3421	-53.18	-26.49%

### A: % d'inhibition positif → Réduction de l'hémolyse (resultat positif)

les échantillons clou g +thymus (figure 25 ) et le thymus ,clou g et mélange de 4 HE avec des DO plus faibles (0.3694 - 0.6074 ) montrent une inhibition significative (entre 42 % et 65%).Cela suggère un effet protecteur contre l'hémolyse, potentiellement lié aux huiles essentielles.

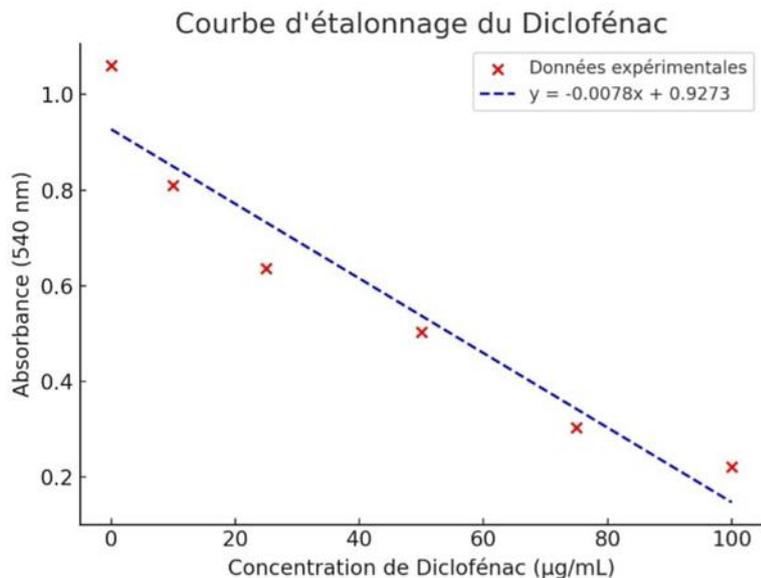


**Figure 25:** résultat de clou de girofle + *thymus vulgaris*

### B . % d'inhibition négatif → Augmentation de l'hémolyse (résultat négatif)

L'huile essentielle du Citrus (DO = 1.3421) a une inhibition négative de l'hémolyse (-26.49%), ce qui signifie qu'il a augmenté l'hémolyse au lieu de la réduire. Cela peut être expliqué par la forte concentration de l'huile essentielle ou bien au produit utilisé (le DMSO), qui peuvent devenir toxiques.

L'huile essentielle de *citrus* ont montré des résultats négatifs (DO: -53.18 µg/mL), cette valeur de la DO dépasse la plage de la courbe d'étalonnage et ne peut pas être comparée directement au diclofénac. (figure 26).



**Figure 26:** courb d'étalonnage du diclofénac

Les huiles essentielles réduisent l'inflammation en inhibant des enzymes (COX, LOX), en contrôlant cytokines pro-inflammatoires, en neutralisant les radicaux libres et en stabilisant les cellules. De telles molécules telles que le 1,8-cinéole, le thymol ou le carvacrol sont les principaux actifs, Agir de manière naturelle, synergique et efficace si bien utilisée ( Miguel ,2010), (Juergens, 2014).

Ces médiateurs induisent une vasodilatation (dilatation des vaisseaux sanguins) et une augmentation de la perméabilité vasculaire. Ce processus permet l'extravasation du plasma ainsi que l'infiltration de cellules immunitaire (Ghoch et al ,1995) ( Abbas et al , 2022).

### **VII .Formulation d'un gel anti-inflamatoire**

Le gel formulé à base des huiles essentielles des quatres especes étudiées doit etre testé avant utilisation ,Ce processus nécessite un délai variable et par conséquent, les résultats de la formulation ne sont pas encore conclusifs.



### Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude des propriétés biologiques de quatre huiles essentielles ainsi que leurs mélanges : *Syzygium aromaticum* (clou de girofle), *Thymus vulgaris* (thym), *Citrus limon* (citron) et *Pelargonium graveolens* (géranium rosat), dans le but d'évaluer leur potentiel antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire, ainsi que leurs interactions synergiques.

Les huiles essentielles de clou de girofle, de thym et de géranium ont été acquises commercialement, tandis que celle de citron a été extraite par hydrodistillation. Le rendement d'extraction du *Citrus limon* a été de 0,32 %, ce qui est cohérent avec les valeurs généralement observées pour cette espèce.

L'analyse chromatographique (CG-MS) des quatre huiles a permis d'identifier les principaux composés actifs responsables de leurs effets biologiques : l'eugénol pour le clou de girofle, le thymol pour le thym, le limonène pour le citron, et le géraniol pour le géranium. Ces composants, reconnus pour leurs activités thérapeutiques, ont servi de base à l'interprétation des résultats expérimentaux.

Les essais biologiques ont révélé une activité antioxydante marquée, en particulier pour l'huile de *Thymus vulgaris*, suivie de celle de *Syzygium aromaticum*. Bien que toutes les huiles aient montré un certain pouvoir antioxydant, aucun échantillon n'a dépassé l'efficacité de l'acide ascorbique utilisé comme référence. Le mélange d'huiles a, cependant, montré un effet complémentaire intéressant.

L'activité antimicrobienne a été testée sur plusieurs souches bactériennes (Gram + et Gram -) et fongiques. Les résultats ont montré une forte efficacité des huiles et de leurs mélanges, notamment contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. L'association de certaines huiles, notamment celle de thym et de girofle, a présenté un effet synergique puissant, surpassant parfois les antibiotiques de référence.

L'activité anti-inflammatoire, mesurée *in vitro* (stabilisation membranaire) et *in vivo* (modèle d'œdème auriculaire), a confirmé l'efficacité des huiles, avec une action particulièrement notable pour *Syzygium aromaticum* et *Pelargonium graveolens*.



## CONCLUSION

---



En conclusion, cette étude met en évidence le potentiel thérapeutique important des huiles essentielles étudiées, tant individuellement qu'en synergie. L'huile de *Syzygium aromaticum* s'est distinguée comme la plus performante de l'étude, notamment grâce à sa richesse en eugénol. Ces résultats soutiennent leur intégration dans des applications parapharmaceutiques naturelles.

Il serait intéressant de compléter ces travaux par l'étude de toxicité des huiles essentielles purs d'une part et par des tests des différentes activités en utilisant des huiles essentielles diluées.



# Références bibliographiques



### A

- **Afnor. (2000).** « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris,
- **Alain. (2023).** «Le giroflier un trésor qui vieillit bien». Les chronique du végétal.
- **Auvray, I. (2020).** Huistoire, propriétés et utilisations de l'eugénol en odontologie. Thèse de doctorat Université de Lorraine France.
- **Atmani H., Baira K. (2015).** «Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères physico –chimique de l'huile essentielle du clou de girofle *Syzygium aromaticum*. Mémoire de Master : Biologie et Physiologie Végétal. : Université de Frères Mentouri, Constantine ; Algerie.
- **Abdelli W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat en Microbiologie Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Algerie .
- **Amiot J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de montpellier. France
- **Abed, S., Messaadia, B., Djessas, M. (2020).** Etude des propriétés physicochimiques et biologiques de *Thymus vulgaris L.* Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Algerie
- **Adwan, G., Abu-Shanab, B., Adwan, K., Abu-Shanab, F. (2006).** Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turk. J. Biol.....*
- **Azoug M.1997** « Analyse par CG-SM des géraniums poussant en Algérie ». Mémoire de magister en Chimie, USTHB, Alger.
- **Atailia I, & Djahoudi A (2015).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *géranium rosat (Pelargonium graveolens L'Hér.)* cultivé en Algérie. *Phytothérapie*.
- **Alma M. H., Nitz S., Kollmannsberger H., Digrak M., Efe F. T., Yilmaz N. 2004.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish Pistachio (*Pistacia vera L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **AFNOR (Association Française de Normalisation) (1986):** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. AFNOR, Paris.
- **Adams, R. P. (2007):** Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publishing Corporation.

### B

- **Blama, A., et Mamine, F. (2013) :** Etude ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques dans le sud algérien : le Touat et le Tidikelt. In 5. Symposium international des plantes aromatiques et médicinales.
- **Barbelet, S. (2015)** Le giroflier : historique, description et utilisation de la plante et de son huile essentielle. Mémoire de Master. Université de Lorraine. France.
- **Bao, L. M., Nozaki, A., Takahashi, E., Okamoto, K., Ito, H., & Hatano, T.(2012)** Biological effects of essential oils.
- **Bhowmik, D., Kumar, K. S., Yadav, A., Srivastava, S., Paswan, S., & Dutta, A. S. (2012).** Recent trends in Indian traditional herbs *Syzygium aromaticum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*,
- **Boutineau, M. (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris, Editions Tec and Doc, Lavoisier.
- **Bousbia N ,(2011).**Extraction des huiles essentielle riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat: Chimie. Ecole Nationale Supérieure Agronomique
- **BLANCKE, R., 2001.** Guide des fruits et légumes tropicaux. Ed: Eugen Ulmer, Paris.
- **Bachés B.M. 2011.** Agrumes comment les choisir et le cultiver facilement. Editions Eugen Ulmer, 8 Rue Blanche, 75009 Paris
- **BOUCHACHIA, Souad. (2017/2018).** *Connaissance de la microflore digestive : évaluation de l'allaitement maternel sur la mise en place du microbiote intestinal du nouveau-né.* Thèse de doctorat en Sciences biologiques, spécialité Microbiologie, Université Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Burm.f., N.L. (1768).** *Flora Indica: cui accedit series zoophytorum indicorum, nec non Prodromus Florae Capensis.* Lugduni Batavorum (Leiden) : Cornelius Haak.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- - **Balladin D A., Headley O. (1999)**. Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. Renewable Energy
- **Bardeau F., 2009**. Les huiles essentielles. Ed. Lanore. Paris.
- Bezanger-beauquesne L, pinkas M, torck M, trotin F.1980 « Plantes médicinales des régions tempérées ». Maloine SA Editeurs, Paris ..
- **Bruneton, J. (2009)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Tec & Doc Lavoisier
- **Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., & Kebir, H. T. (2013)**. Pelargonium graveolens essential oil as a powerful antioxidant and antimicrobial agent: A bioactive potential of Algerian plant. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.
- **Boukhatem, M. N., Kameli, A., Saidi, F., & Baiti, I. (2014)**. Rosemary essential oil as a natural remedy with anti-inflammatory activity. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- **Baba Aissa, F. (2011)** Encyclopédie des plantes utiles, Flore méditerranéenne (Maghreb)
- **Bocco, A., Cuvelier, M.E. Richard, H., Berset, C. (1998)**. Antioxydant Activity and Phenol Composition of Citrus Pell and Seed Extracts. J. Agric. Food Chem.
- **Ben Hsouna A and Hamdi N (2012)**. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from Pelargonium graveolens growing in Tunisia. Lipids in Health and Disease.
- **Bennis, S., F. S. Chami, et al. (2004)**. "Surface alteration of Saccharomyces cervisiae induced by thymol and eugenol" Letters in Applied Microbiology .
- **Buchbauer G., 2010**. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America.
- **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008)**. Biological effects of essential oils—A review. Food and Chemical Toxicology.
- **Burt, S. (2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology.
- **Bourgeois, C. M., & Lemoine, J. (2010)**. Microbiologie alimentaire : Aliments et environnement (4e éd.). Paris : Tec & Doc – Lavoisier.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Ben Yahmed, J., Ghrab, M., & Mimoun, M. B. (2011).** Le citronnier : Aspects physiologiques et pratiques culturelles. Centre Régional de Recherche en Horticulture et Agriculture Biologique (CRRHAB), Tunisie.
- **Bousselmi, S. (2015).** Étude botanique et phytochimique de *Thymus vulgaris L.* et évaluation de son activité antimicrobienne [Mémoire de Master, Université de Tunis El Manar].
- **Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Rejeb, M. N., Neffati, M., ... & Pedro, L. G. (2007).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. Food Chemistry,
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensm. Wiss. Technol.
- **Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003).** Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. Flavour and Fragrance Journal.
- **Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012).** Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules.

### C

- **Chaouch, A., Rabahi, F., Tlidi, N. (2023).** Conception d'un gel antibactérien à base des huiles essentielles (Clou de girofle, Thym et la Sauge). Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma.
- **Chevallier, A. (2007).** Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins. Paris.
- **Charles, D. J. (2013).** *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources:* Springer Science & Business Media.
- **Cheriti, A., Belboukhari, N., Sekkoum, K., Hacini, S. (2006)** Plants of algerian semi-arid regions used for the treatment of gastro-intestinal disorders. Journal algérien des régions arides.
- **Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F., & Oliveira, W. P. (2014).** Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. Asian Pacific journal of tropical biomedicine.
- **Chaib, A. (2014).** Guide de phytothérapie plantes et huiles médicinales. Alger. Thala editions.



- **Chraibi M, Fikri-Benbrahim K, Edryouch A, Fadil M, Farah A (2019).** Caractérisation chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et *Myrtus communis* et leur effet antibactérien synergique, Phytothérapie.
- **Cheurfa, M., Allem, R., Sebahia, M.S., Belhireche. (2013).** Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. Phytothérapie.
- **Caillet S. et Lacroix M. 2007.** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA).
- **Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*.
- **Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A. B., Rouabhia, M., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2007).** The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. *Phytotherapy Research*.
- **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J. E., Warmington J. R., et Wyllie S.G., (2000).**- The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. ected bacteria, fungi and viruses. *J Essent Oil Res* .
- **Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012).** Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*.
- **Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012).** Evaluation of anti-inflammatory effect of Ashwagandha: A preliminary study in vitro. *Pharmacognosy Journal*.
- **Couic-Marinier F. (2023).**L'aromathérapie, une nouvelle piste pour lutter contre l'antibiorésistance *Actualités Pharmaceutiques* Volume 62, Issue 627, Pages 30-33



### D

- **Débuigine G. et Couplan F., (2008).** Petit Larousse des plantes qui guérissent. Ed : Larousse, Paris.
- **Duan, P., Sun, S., Li, B., Huang, C., Xu, Y., Han, X., ... & Yan, W. (2014).** miR-29a Modulates Neuronal Differentiation through Targeting REST in Mesenchymal Stem Cells. *PLOS ONE*
- **Demarne FE. (1986).**« La sélection des Pelargonium à parfum ». J.I.H.E, Digne,
- **Demarne FE. (1992).** influences du mode de récolte sur la distillation du géranium rosat. Agronomie tropicale France.
  
- **Dupuy, A.,(2010),** Stabilisation de l'interface liquide-liquide dans un contacteur membranaire: Application ‡ l'extraction sélective de terpènes oxygénés d'huile essentielle d'agrumes. AgroParisTech.
- Dongmo, P.M.J., et al(2000)., Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*. Fruits
- **Dorman H.J.D.et Deans H.J.D.(2000)** .Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. –J. Appl. Microbiol.
- **DeYoung, L. M., Kheifets, J. B., Ballaron, S. J., & Young, J. M. (1989).** Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. Agents and Actions.

### E

- **Eric, P. (2014).** Le giroflier à Madagascar : une « success story » ... à l'avenir incertain. Bois et Forêts des Tropique..
- **Eric, P., Quentin, G., Mixchel, J, Pascal, D. (2017).** Le Girofle : poids dans l'économie malgache et place de Madagascar dans le marché mondial. Projet AFS4FOOD.
- **Eberhard.T,Robert.A ,Annelise.L. ,(2005).** Plantes aromatiques.Editions.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Ettayebi, K., El Yamani, J., Rossi-Hassani, B.D. (2000).** Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*. FEMS Microbiology Letters.
- **El-Bakkal S. E., Zeroual S., Elouazkiti M., Mansori M., Bouamama H., Zehhar N., El-Kaoua M. (2020).** Comparison of yield chemical composition and biological activities of essential oils obtained from *thymus pallidus* and *thymus satureioides* Coss. grown in wild and cultivated conditions in Morocco. Journal of Essential Oil Bearing Plants .

### F

- **Franchomme, P., Jollois, R., & Pénéol, D. (2001).** L'aromathérapie exactement : Encyclopédie scientifique et médicale des huiles essentielles. Roger Jollois.
- **Fernandez, X., Frérot, É., & Gleizes, M. (2012).** Natural variability of the essential oil of *Pelargonium graveolens* (L'Hér.) cultivated in the South of France. Industrial Crops and Products.
- **Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F., (2010).** Citrus d'Algérie, les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction. Office des Publications Universitaires.

### G

- **Goetz, P., Ghedira, K., et Le Jeune, R. (2010).** *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. Phytothérapie.
- **Gollun F., Tonelli N, (2013).** Des fruits et des graines comestibles du monde entier. Edition Brigitte Peyrot Poos. Paris Lavoisier SAS.
- **González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D.A. et García-Viguera, C. (2010).** Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. J. Pharm. Biomed. Anal.
- **Gil-Izquierdo, A., Riquelme, M.T., Porras, I. et Ferreres, F. (2004).** Effect of the rootstock and interstock grafted in lemon tree (*Citrus limon*(L.) Burm.) on the flavonoid content of lemon juice. J. Agric. Food Chem.
- **Guimarães, R., Barros, L., Barreira, J. C. M., Sousa, M. J., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2010).** Targeting excessive free radicals with peels and juices of



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- citrus fruits: A promising source of phytochemicals and antioxidants. Food and Chemical Toxicology.
- **Guerfa, S., Ounaissia, N. (2015).** Contribution à l'étude d'activités antioxydante et antiinflammatoire de certaines huiles essentielles. Mémoire de master. Université 8 Mai 1945 Guelma.
  - **Girenavar B., Jayaprakasha G.K., Jadegoud Y., Nagana Gowda G.A., Patil B.S. (2007).** Radical scavenging and cytochrome 3A4 inhibitory activity of bergaptol and geranylcoumarin from grapefruit. Bioorg Med Chem.
  - **Gorinstein, S., Martin-belloso, O., Park, Y.S et al (2001).** Composition of some biochemical characteristics of different citrus fruit. Food Chem.
  - **Gertsch, J., Leonti, M., Raduner, S., Racz, I., Chen, J. Z., Xie, X. Q., ... & Zimmer, A. (2008).** Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. Proceedings of the National Academy of Sciences.
  - **Guenther, E. (1972).** The Essential Oils: History – Origin in Plants – Production – Analysis . D. Van Nostrand Company Inc.

## H

- **Hellal Zohra., (2012)** :Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et Antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine(Sardina pilchardus).Magister en biologie .université mouloud mammeri de tizi-ouzou.
- **Himed Louiza ,MernizSalah, BarkatMalika,(2016).** Evaluation des activités Antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de Citrus limon (variété Lisbon) extraite par hydrodistillation ,Algerian journal of natural products.
- **Hussain AI, Anwar F, Nigam PS, Ashraf M, Gilani AH, (2010).** Seasonal variation in content,chemical composition and antimicrobial and cytotoxicactivities of essential oils from four Mentha species, Journal of the Science of Food and Agriculture.



- **Hassan, S.O.S., Ghanmi, M., Satrani, B., Mansouri, N., Mohamed, H., El Hajaji, H., & Chaouch, A. (2011).** Chemical composition and antibacterial, antifungal and antioxidant activity of Comoros Pelargonium asperum Ehrh. ex Wilde essential oil. *Botanica Gallica*.
- **Hotta M., Kato T., Fukui H., et al. (2020).** Immunomodulatory activities of selected essential oils. *Phytotherapy Research*.

### I

- **Iserin P. Vican P, (2001),** Encyclopédie des plantes médicinales/ Identification, préparations, soins. Larousse édition, Paris.
- **Ismaili, R., Houbairi, S., Lanouari, S., Moustaid, K., Lamiri, A. (2017).** Etude De L'Activité Antioxydante des Huiles Essentielles De Plantes Aromatiques Et Médicinales Marocaines. *European Scientific Journal*.
- **Isabelle, L. (2020).** L'eugénol en odontologie : applications et perspectives. *Journal d'odontologie*.
- **I. ATAILIA, (2015/2016),** Thèse de Doctorat, Sensibilité bactérienne aux extraits bio-actifs de Pelargonium graveolens (Géranium rosat), UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA.

### J

- **Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A., & Schmidt, E. (2006).** Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- **Janati, S., Hamous, H., & Mehdizadeh, T. (2012).** Chemical composition and nutritional value of lemon (*Citrus limon*) peel. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*.
- **Jouault, S. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. France.
- **Juergens, U. R. (2014).** Anti-inflammatory properties of the monoterpene 1,8-cineole: current evidence for co-medication in inflammatory airway diseases. *Drug Research*,



### K

- **Kuete, V. (2017).** Chapter 29 *Syzygium aromaticum* Medicinal Spices and Vegetables from Africa): Academic Press.
- **Kamatou, G. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M. (2012).** Eugenol from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*.
- **Kubitzki, K (2007).** The Families and Genera of Vascular Plants. IX Flowering Plants. Eudicots. Springer Berlin Heidelberg New York..
- **Kehal, F.(2013).** Utilisation de l'huile essentielle de *Citrus limon* comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche, mémoire de Magister, université de canstantine, Alger,
- **Kasrati A., Alaoui Jamali C., Fadli M., Bekkouche K., Hassani L., Wohlmuth H., Leach D., Abbad A. (2014).** Antioxidative activity and synergistic effect of *Thymus saturejoides* Coss. essential oils with cefixime against selected food-borne bacteria. *Industrial Crops and Products* .
- **Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2020).** Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease (10e éd.). Elsevier.

### L

- **Lim, T. K. (2014).** *Syzygium aromaticum Edible Medicinal and Non Medicinal Plants* : Springer.
- **LucienneAliD,(2010).** Les plantes médicinales d'Algérie. Edition Berti. lyophilisedaqueous extract of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Research International*,
- **Lis-balchin M. (2002).** « Geranium and pelargonium: the genera Geranium and Pelargonium ». CRC Press, Taylor & Francis, London.
- Lis-balchin M. « Aromatherapy science: A guide for healthcare professionals ». Pharmaceutical Press, London 2005, pp : 195-201.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- **Lalami, A. E. O., El-Akhal, F., Ouedrhiri, W., Ouazzani Chahdi, F., Guemmouh, R., & Greche, H. (2013).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioides*. *Les Technologies de Laboratoire*.
- **Labiad, B., Abdelli, W., Bahri, F., Abderrahmane, R., Höferl, M., & Buchbauer, G. (2017).** Chemical composition and anti-inflammatory activity of Algerian *Thymus vulgaris* essential oil. *Natural Product Communications*.
- **Lambert, R. J. W., P. N. Skandamis, et al. (2001).** "A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol" *Journal of Applied Microbiology* .

## M

- **Merr. & L.M.Perry (2023)** *Syzygium aromaticum* (L.) in GBIF Secretariat . GBIF Backbone Taxonomy.
- **Meziane M, (2013)** Supérieur d'Agronomie, El-Harrach, Alger.). Assainissement et Régénération des Plantes d'Agumes par l'Embryogenèse Somatique à partir de la culture de *Stigmataet Style*. Ecole Nationale.
- **Mebarki, N. (2010).**Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse - antimicrobienne. Thèse de Doctorat, Université M'hamed Bougara, Boumèrdes, Algérie.
- **Moutaouafiq S, Farah A, Ezzoubi Y, Ghanmi M, Satrani B & Boust D (2019).** Antifungal Activity of *Pelargonium graveolens* Essential Oil and Fractions Against Wood Decay Fungi, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*.
- **Misharina T.A., Samusenko A.L. ((2008).** Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Prikl Biokhim Mikrobiol*.
- **Mnayer, D. (2014).** Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat. Université d'Avignon. France.
- **Miguel, M. G. (2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*.



- **Maugat Sylvie , Berger-Carbonne Anne, Colomb-Cotinat Mélanie, Cavalié Philippe, Coignard Bruno. (2019).** Antibiotiques et résistance bactérienne : une menace mondiale, des conséquences individuelles. Santé publique France.

### N

- **Nyabyenda P. (2006).** Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique. Presses Agronomiques de Gembloux. Bruxelles.

### O

- **Ozcan, M., & Chalchat, JC (2004).** Profil aromatique de *Thymus vulgaris L.* poussant à l'état sauvage en Turquie. Journal bulgare de physiologie végétale.
- **Ozen, T., Demirtas, I. et Aksit, H. (2011).** Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of *Thymus praecox subsp. skorpilii var. Skorpilii*. Food Chemistry.
- **OMS,( 1999),** Lignes directrices pour l'application des principes du HACCP Alinom 93/13A 2ème session de la commission FAO/OMS du Codex Alimentarius.

### P

- **Praloran J.C,(1971).** Les agrumes , Maisonneuve PetLarose,Paris.
- **Pariente. (2001)** :Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris .
- **Pinto et al . 2006.** Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. Journal of Agricultural and Food Chemistry.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- **Peana, A. T., et al. (2002).** Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*.
- **Pramod, K., Ansari, S. H., & Ali, J. (2010).** Eugenol: A natural compound with versatile pharmacological actions. *Natural Product Communications*.
- **Park, S. H., Sim, Y. B., Lee, J. K., Kim, S. M., & Suh, H. W. (2011).** Antinociceptive profiles and mechanisms of orally administered eugenol in the mouse. *Archives of Pharmacal Research*.
- **Ponce A-G, Fritz R, Del Valle C, Roura S.I, (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*.

### R

- **RAYMOND M., (2005).** L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. Thèse de Doctorat, Pharmacie, Université de Nantes.
- **Ravindra, P., Maheshwari, R., & Kaushik, P. (2015).** Pelargonium graveolens essential oil: Chemical composition and therapeutic potential. *Journal of Essential Oil Research*.
- **Rega B, Fournier N, Guichard E., Russell R, (2003).** Citrus flavour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- **Rodov V., Ben-Yoshua S., Fang D. Q., Kim J. J., Ashkenazi R. 1995.** Preformed antifungal compounds of lemon fruit: Citral and its relation to disease resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- **Ravelo-Calzado, Y., Molina-Cuevas, V., Jiménez-Despaigne, S., Pérez-Guerra, Y., Oyarzabal-Yera, A., Carbajal-Quintana, D. and Mas-Ferreiro, R. (2011).** Effects of D-002 on xylene-induced oedema in ear of mice *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*.
- **Raut, J. S., & Karuppaiyil, S. M. (2014).** A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*.
- **Ramadan, M.F. (2010).** Rapid antiradical method for screening deep fried oils. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*.
- **Reverchon, E., & De Marco, I. (2006).** Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *The Journal of Supercritical Fluids*.



- **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 Radical Biology and Medicine*.

### S

- **Spichiger, R., Caldelari, D., & Pamperl, S. (2004).** *Systématique végétale: une approche phylogénétique*. Presses polytechniques et universitaires romandes.
- **Shmeit H., Fernández Y., Novy E., Kloucek P., Orosz P., Kokoska L.(2020).**Autopolyploidy effect on morphological variation and essential oil in *Thymus vulgaris L.* *Scientia Horticulturae*.
- **Stahl-Biskup, E et Saez, F. (2002).** *Thyme: The genus Thymus*. London; New York, USA: Taylor & Francis. tandem mass spectrometry, *International Journal of Food Properties*.
- **Satyral, P., Murray, B. L., McFeeters, R. L., & Setzer, W. N. (2016).** Essential Oil Characterization of *Thymus vulgaris* from Various Geographical Locations. *Foods*.
- **Seidemann J. (2005).** *World spice plants: economic, usage, botany, taxonomy*. Springer. London.
- **Senoussi, M., Noumi, E., Trabelsi, N., Flamini, G., Papetti, A. and Vincenzo Defeo. (2015).** *Mentha spicata* essential oil: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities .Against planktonic and biofilm cultures of vibriosppstrains.*Molécules*.
- **Shraddha Dudal., Sujan Chaudhary., Chiranjibi Dangi., Shiv Nandan Sah., (2021) :** Antibacterial Effect of Essential Oils(Clove oil, Castor oil and Ginger oil) against human pathogenic bacteria .
- **Shoba, G., Joy, D., Joseph, T., Majeed, M., Rajendran, R., & Srinivas, P. S. (1998).** Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Medica*.
- **Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. (2010).** Biological properties of medicinal plants: A review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Sun, J. (2007).** D-Limonene: safety and clinical applications. *Alternative Medicine Review.*
- **Shinde, U. A., et al. (1999).** Membrane stabilizing activity – a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of Cedrus deodara wood oil. *Fitoterapia.*
- **Salmieri, S., Bouguerra, A., & Lacroix, M. (2014).** Mécanismes d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation. *Journal of Essential Oil Research.*

### T

- **Touhami A. (2017).** Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres Thymus récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de doctorat, chimie, Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005).** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles.
- **Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., and Polissiou M. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food. Chemistry.*
- **Taoufik F., Anejjar A., Asdadi A., Salghi R., Chebli B., EL Hadek M., Idrissi Hassani L. M. (2017).** Synergic effect between *Argania spinosa* cosmetic oil and Thymus satyroides essential oil for the protection of the carbon steel against the corrosion in sulfuric acid medium. *Journal of materials and Environmental Sciences .*
- **Tang, S. Z., Kerry, J. P., Sheehan, D., & Buckley, D. J. (2001).** Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. *Food Chemistry.*
- 

### U

- **U.S. Department of Agriculture. (2020).** FoodData Central.

### V

- **Vidalie H.(1998)** « Les productions florales ». Edition techniques et documentations, Paris.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- **Valero M., Giner M.J., (2006)** . Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of bacillus cereus INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. International Journal of Food Microbiology.
- **Vane, J. R., & Botting, R. M. (1998)**. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. International Journal of Tissue Reactions.

### W

- **Walwita WALC, Dharshika AKD , Liyanage RP , Dissanayake KGC, (2021)**. Pharmacological Actions of Citrus Limon Leaves, International Journal of All Research Education and Scientific Methods.
- **Walsh, S. E., J.-Y. Maillard, et al. (2003)**. "Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria" Journal of Applied Microbiology .
- **Wagner, H., & Ulrich-Merzenich, G. (2009)**. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Phytomedicine.
- **Williamson, E. M. (2001)**. Synergy and other interactions in phytomedicines. Phytomedicine.
- **World Health Organization. (2003)**. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants.

### Y

- **Yavari kia, P., Safajou, F., Shahnazi, M. et Nazemiyeh, H. (2014)**. The effect of lemon inhalation aromatherapy on nausea and vomiting of pregnancy: a double-blinded, randomized, controlled clinical trial. Iran Red Crescent Med J.
- **Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011)**. Évaluation de l'activité antimicrobienne de Thymus vulgaris et de Laurus nobilis, plantes utilisées en médecine traditionnelle. Phytothérapie.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Yeddes W., Mejri I., Grati-Affes T., Khammassi S., Hammami M., Aidi-Wannes W., Saidani-Tounsi M. (2022).** Synergistic effect of cloves (*Syzygium aromaticum*), thyme (*Thymus vulgaris*) and lemon (*Citrus limon*) blended essential oils optimized by mixture design for improving the antioxidant activity. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*.
- **Yadav, R. N. S., et al. (2013).** Evaluation of membrane stabilizing activity of various extracts of *Piper longum* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.

### Z

- **Zacharias, E., Sntres, John, C., Misagh, A. (2013).** The bioactivity and toxicological actions of carvacrol.
- **Zhang et al . (2024).** Synergistic activity of clove essential oil and thyme essential oil and their interaction against *Malassezia furfur*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. *LWT - Food Science and Technology*.
- **Zhang, L., Liu, L., Liu, Z., Wang, Q., Wang, M., & Guo, C. (2023).** Xylene induces inflammation via activation of oxidative stress and NF- $\kappa$ B pathway in murine macrophages. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.

### Site web

Annonyme. [www.flickrv.com](http://www.flickrv.com)

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Citronnier>.



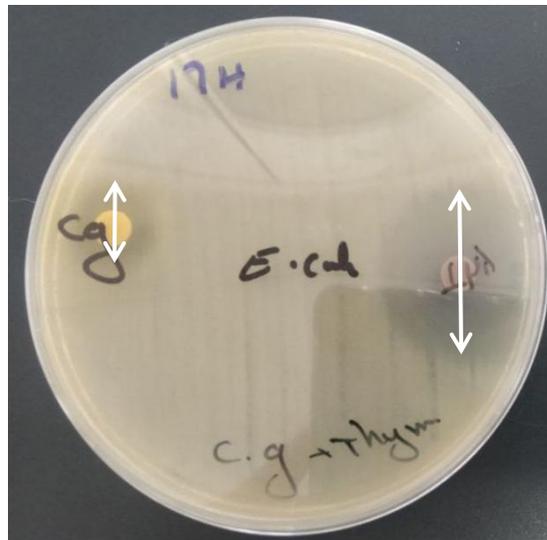
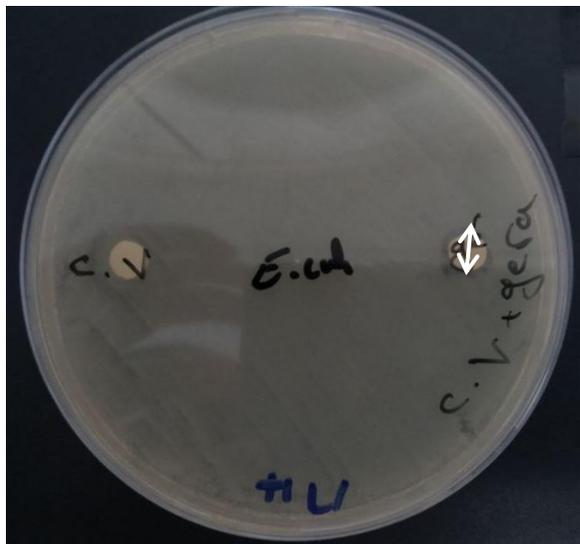
# Annexes



## Annexe 01: Le matériel non biologique utilisés

Verreries et petits matériels	Appareils	Réactifs et produits chimiques
- Bec Bunsen	- Autoclave	- Eau distillé stérile
- Boîtes de Petri	- Bain marie	- Eau physiologique
- Embouts de micropipette	- Balance de précision	- Solution saline tamponnée (PBS, pH 7.4)
- Entonnoir	- Etuve	- Solution hypotonique (NaCl 0,25% au lieu de 0,9%)
- Eppendorf	- Spectrophotomètre UV-visible	- DMSO
- Erlenmeyer de 100 ml	- Vortex	- DPPH
- Écouvillons	- Centrifugeuse	- Méthanol
- Fiols en verre		- Milieux de culture:
- Micropipettes		▪ Mueller Hinton gélosé
- Papier d'aluminium		▪ Sabouraud gélosé
- Papier film		- Vitamin C
- Papier Wattman		- diclofénac
- Pince		- Xylène
- Pipettes pasteures		- Formol
- Porte tube		
- Spatule		
- Tubes à essai		

Annexe 02: Activité antimicrobienne des huiles essentielles



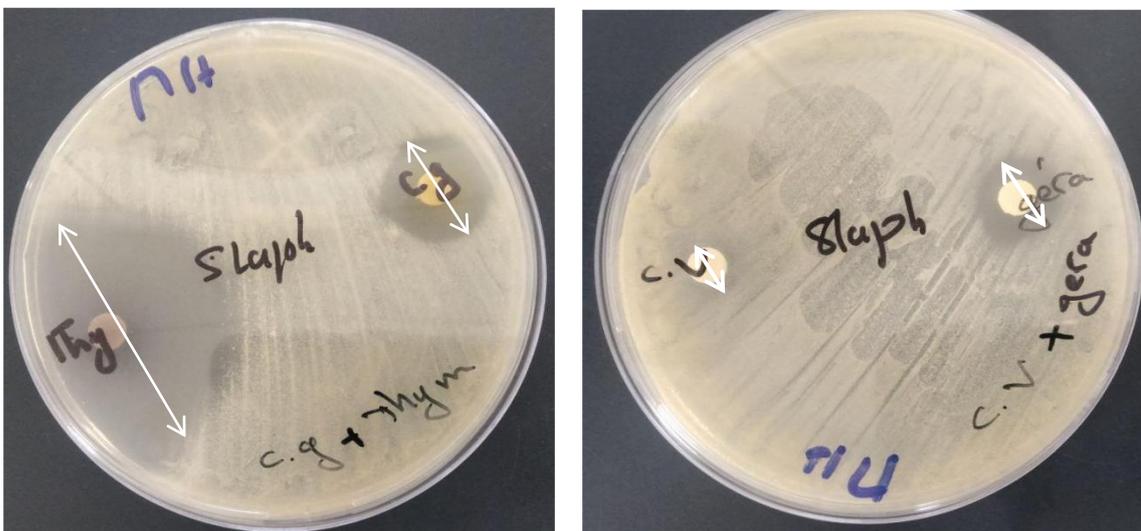
a) *Escherichia coli*



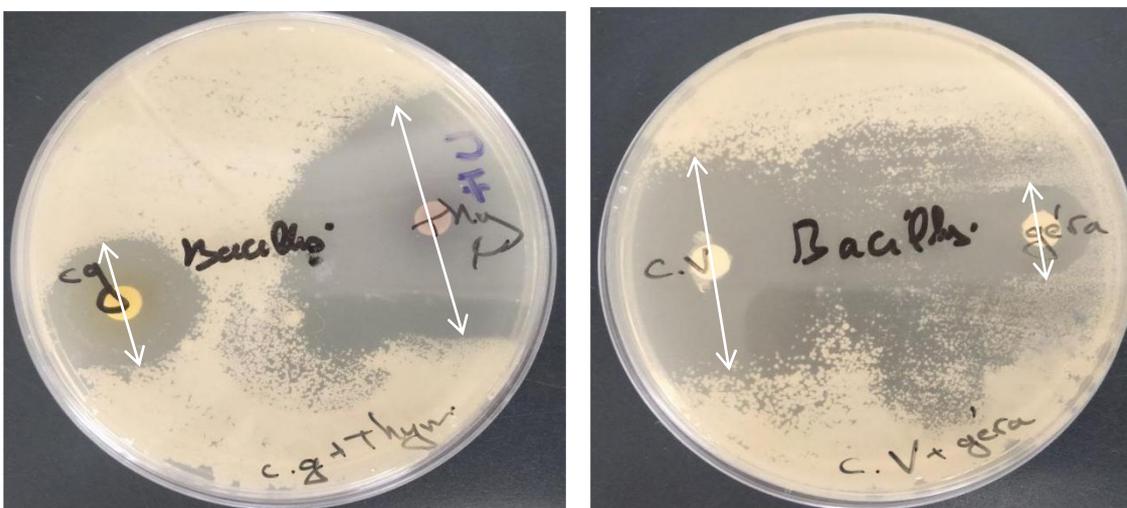
b) *Pseudomonas Aeruginosa*



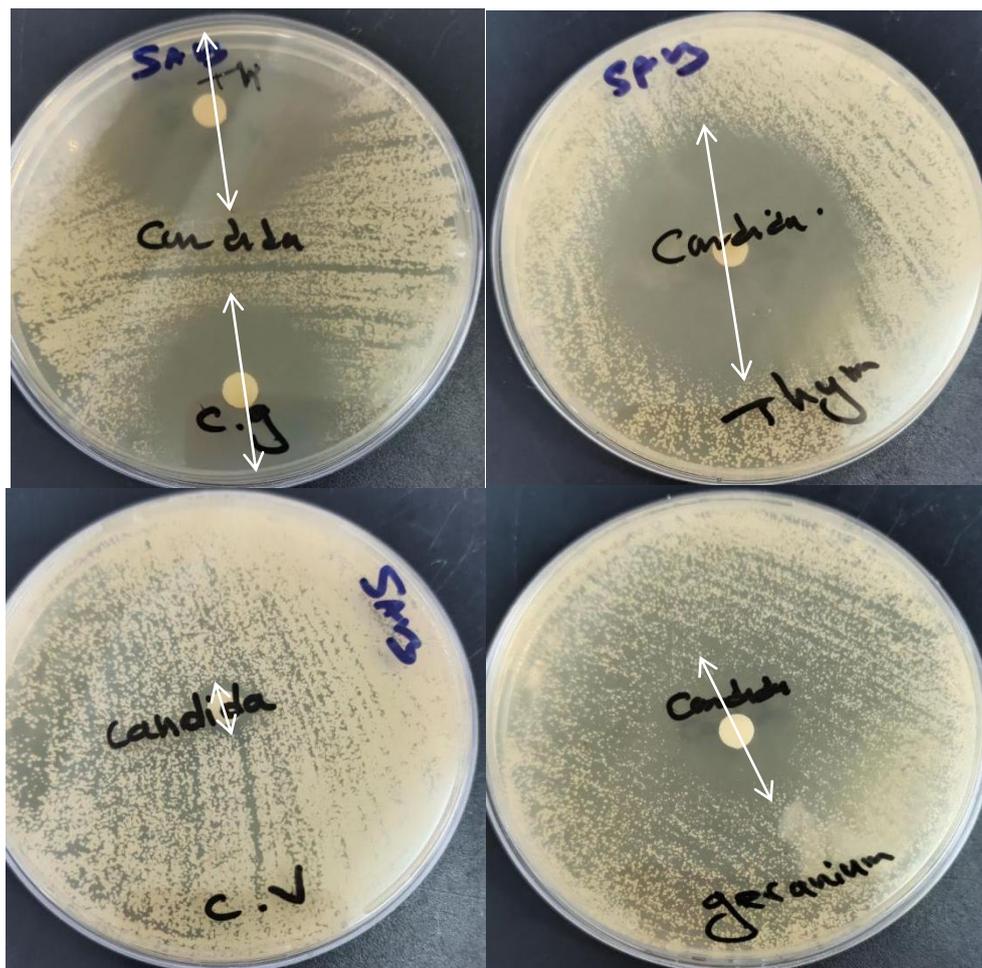
c) *Salmonella Spp*



d) *Staphylococcus aureus*



e) *Bacillus cereus*

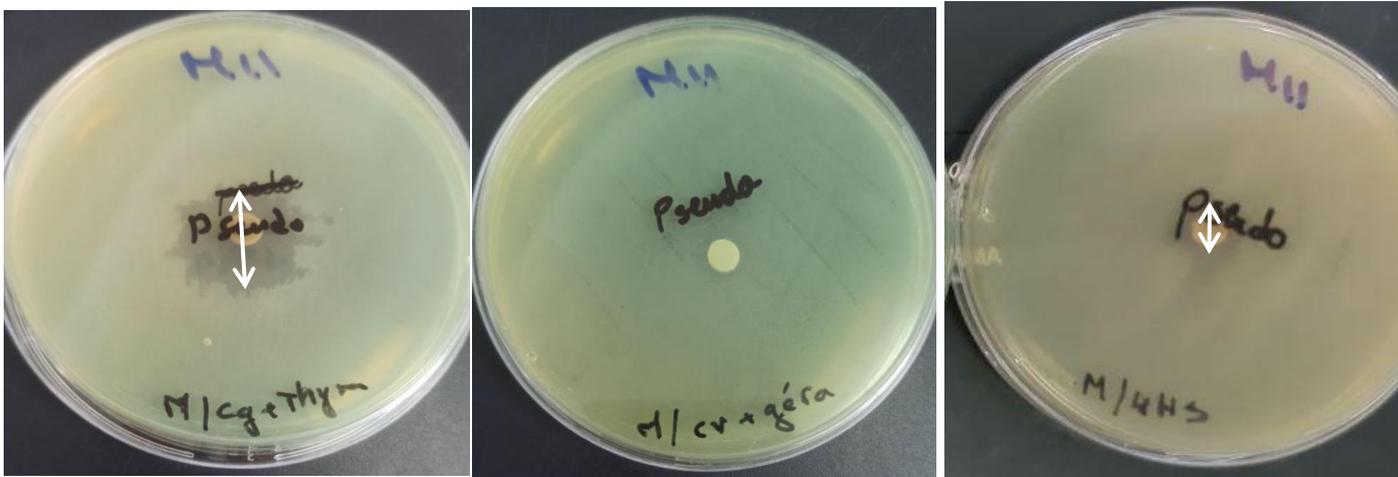


g) *Candida albican*

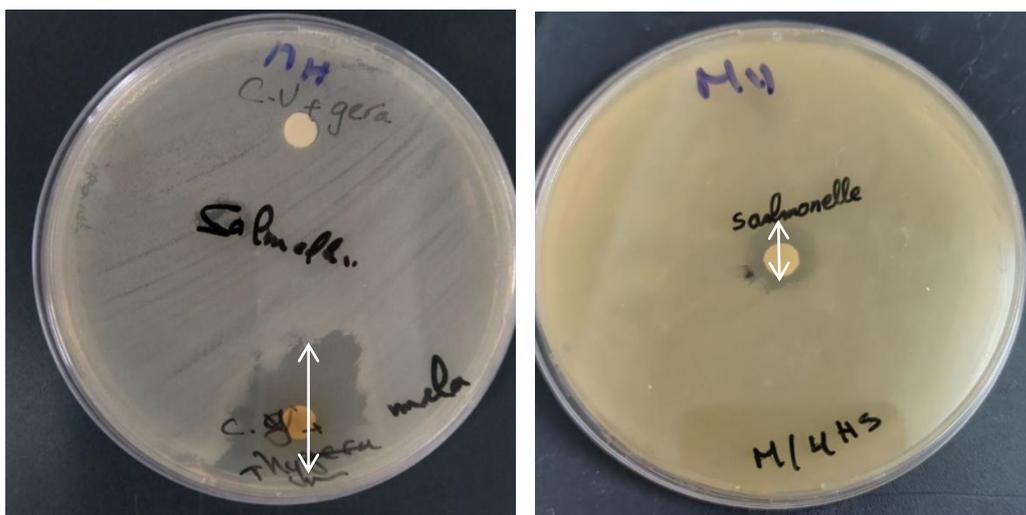
Annexe 03: Activité antimicrobienne des mélanges des huiles essentielles



a) *Escherichia coli*



b) *Pseudomonas Aeruginosa*



c) *Salmonella Spp*



d) *Staphylococcus aureus*



e) *Bacillus cereus*



f) *Candida albicans*



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



Université Saad Dahleb Blida -1  
Facultés des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie et Agro-alimentaire

Mémoire de fin d'étude  
En vue de l'obtention du Diplôme du Master Académique

Option : Biotechnologie

Spécialité

Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème:

Activités biologiques des huiles essentielles de quatre espèces végétales médicinales et formulation d'un gel parapharmaceutique.

Réalisé par :

ALIMOUSSA Imane

BEN SAID Insaf

NEFFAH Melissa

BOUCHELAGHAM Baya

Soutenu le : 23/06/2025

Devant le jury composé de :

Mr Bendali A	MAA	Université Saad Dahleb Blida
Mme Ghanai R	MCB	Université Saad Dahleb Blida
Mme Boutekrabi N	MCB	Université , Alger 1

Année universitaire: 2024 / 2025

Président

Promotrice

Examinatrice

Dr. BOU TEKRABI

