

	NOM ET PRENOM	GRADE	ETABLISSEMENT
Président	Pr ABDELLAOUI Abdelfattah	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès
Directeur de thèse	Pr TALEB Mustapha	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès
Rapporteurs	Pr RAIS Zakia	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès
	Pr AINANE Tarik	PH	EST-Khénifra
	Pr TALEB Abdeslam	PH	FST- Mohammedia
Membres	Pr EL OUATASSI Noureddine	PH	Centre Régional des Metiers de l'Education et de Formation - Fès
	Pr BENBOUYA Khalid	PH	Ecole Supérieure de Technologie - Salé
Invité	Pr CHAQROUNE Abdellah	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès

Résumé :

Le Maroc recèle d'un patrimoine génétique important de plantes médicinales et aromatiques (PAM) dont plusieurs sont endémiques. Les huiles essentielles (HE) et les différents extraits d'espèces de PAMs sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et à la préservation de plusieurs produits alimentaires. Le présent travail a été consacré à l'étude d'un ensemble de PAMs appartenant aux espèces suivantes : *Origanum compactum* Benth. (*O. compactum*), *Thymus vulgaris* (T. *vulgaris*), *Thymus hyemalis* (T. *hyemalis*), *Rosmarinus officinalis* (R. *officinalis*), *Capparis spinosa* (C. *spinosa*), *Cladanthus mixtus* L. (Chevall). (*C. mixtus*) poussant à l'état spontané dans la région de Taounate (Nord du Maroc).

Nous avons étudié les activités antioxydantes et antimicrobiennes d'extraits et d'huiles essentielles de deux espèces de thym : *T. vulgaris* et *T. hyemalis*. Les extraits végétaux ont été obtenus par deux techniques (macération et sonication) associées à deux solvants (méthanol et acétate d'éthyle). Les activités antimicrobiennes ont été testées contre quatre souches, à savoir : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 3366 et *Candida albicans* ATCC 10231. Le DPPH a été utilisé pour évaluer les activités antioxydantes. Les analyses statistiques effectuées ont démontré que les extraits de plantes et les rendements en huiles essentielles étaient significativement impactés par les espèces végétales, la technique d'extraction, le solvant et leurs interactions. L'extraction par sonication associée au méthanol a permis une meilleure récupération des extraits végétaux par rapport à la macération classique. De plus, *T. vulgaris* a montré sa supériorité en termes de rendement, de teneur en composés phénoliques, d'activités antimicrobiennes et antioxydantes. Les extraits de plantes et les huiles essentielles ont montré des effets inhibiteurs potentiels sur la majorité des souches microbiennes impliquées dans cette étude. Les meilleurs valeurs de diamètres de zones inhibitrices d'extraits ont été trouvées chez *E. coli*. Cependant, pour les huiles essentielles, *S. aureus* avait le record d'effet inhibiteur le plus important. Ces effets pourraient être attribués aux composés phénoliques et flavonoïdes. On peut conclure que les deux espèces végétales étaient des sources prometteuses de composés phénoliques. *T. vulgaris* avait des records plus élevés en termes de rendement des extraits ou des huiles essentielles et présentait donc le plus grand potentiel d'activités antioxydantes et antimicrobiennes. L'extraction par sonication a permis une bonne récupération des extraits végétaux à la fois avec du méthanol ou de l'acétate d'éthyle mais aussi un rendement en huile essentielle. De puissants effets inhibiteurs contre quatre souches microbiennes ont été démontrés par des extraits de plantes et des huiles essentielles. Dans ce contexte, ces deux espèces végétales pourraient être utilisées comme source facilement accessible d'antioxydants naturels et d'antibiotiques dans les produits alimentaires et les médicaments commerciaux.

O. compactum est l'une des espèces médicinales les plus importantes en termes d'ethnobotanique au Maroc. Elle a attiré l'attention de plusieurs travaux de recherche ; cependant, sa composition chimique dans les conditions locales n'est pas bien documentée. Ici, nous avons cherché à déterminer la composition chimique des huiles essentielles, les activités antibactériennes et antioxydantes d'extraits organiques d'*O. compactum*. Les activités antimicrobiennes ont été évaluées contre les quatre souches citées précédemment. Les activités antioxydantes ont été estimées par DPPH. La composition chimique de la plante a été aussi investiguée chromatographie en phase gazeuse. Nos résultats ont montré que le rendement des extraits variait considérablement entre les solvants et variait de 10,30% (n-hexane) à 31,70% (méthanolique). Les extraits méthanoliques avaient les valeurs les plus élevées de rendement, de polyphénols et de flavonoïdes, tandis que les extraits au n-hexane présentaient les valeurs les plus faibles de rendement et de polyphénols. En ce qui concerne les activités antimicrobiennes, *E. coli* a montré l'activité la plus importante. Concernant les activités antioxydantes, les extraits de n-hexane avaient l'activité la plus importante. Le criblage phytochimique a révélé 12 composés. Parmi eux, le γ -terpinène, l'o-cymène et le carvacrol a été les principaux composés (environ 73% du total des composés chimiques). On pourrait conclure que la plante étudiée pourrait être une source prometteuse de composés chimiques responsables d'importantes activités biologiques. Les résultats de notre étude suggèrent l'importance d'*O. compactum* du Maroc pour son utilisation en pharmacie et en phytothérapie. Les composés phénoliques les plus concentrés ont été obtenus en utilisant des solvants de polarité croissante. L'extrait méthanolique avait la plus grande valeur de composés phénoliques et de flavonoïdes. Les résultats obtenus pour l'activité antimicrobienne sont significatifs; ils pourraient être attribués à une plus grande quantité de composés phénoliques. L'HE extraite de cette plante pourrait être considérée comme une excellente source de composés naturels. Certains nutriments d'*O. compactum* ont été déterminés et ses huiles essentielles (OCEO) isolées par extraction assistée par micro-ondes (MW) et hydrodistillation de Clevenger (HD) ont été comparées. À cette fin, des sommités fleuries séchées de la plante ont été soumises à un criblage des nutriments, les OCEO ont été isolés séparément en utilisant MW et HD, puis analysés par GC-

MS. Nos résultats ont montré que *O. compactum* contenait des quantités importantes d'humidité (58,66%), de minéraux (10,26%), principalement K (6,22), Ca (2,62), Mg (2,09 mg/g DM), Fe (0,998), Mn (0,085 mg/g DM), protéines ont été minoritaires (5,65% MS), la chlorophylle a (1,09) et b (0,20 mg/g DM) et plusieurs acides aminés. Parmi eux, deux (Ile et Leu) se sont essentiels. MW a montré sa supériorité en termes de rendement OCEO (7,41%), composés totaux (95,57%), et les principaux composés individuels. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse en composantes principales (ACP), qui a discriminé clairement MW et HD via la première composante. Pour les deux techniques, le thymol et le carvacrol étaient les principaux constituants représentant $78,81 \pm 0,22$ et $14,84 \pm 0,39\%$, respectivement, dans le cas de MW contre $75,07 \pm 0,99$ et $13,03 \pm 0,30\%$ pour HD. OCEO a été un chémotype thymol, et *O. compactum* a été marquée par des quantités importantes de nutriments. MW pourrait servir de méthode verte et efficace sur HD pour l'isolement OCEO.

Sur la base des résultats mis en évidence ci-dessus, un ensemble de conclusions pourrait être tirée. L'OCEO isolée par la méthode assistée par micro-ondes a montré sa supériorité sur l'hydrodistillation Clevenger conventionnelle en termes de rendement, de % de composés totaux et des principaux composés individuels. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse en composantes principales à travers la première composante avec plus de 65% de la variabilité des données. Comme l'a démontré le criblage chimique, *O. compactum* s'est avérée être une riche source de protéines, de minéraux et de pigments (chlorophylles a et b). De même, huit acides aminés ont également été révélés. Parmi eux, Leu et Ile se sont imposés. Des quantités importantes d'éléments minéraux ont été trouvées dans *O. compactum*, principalement K, Ca, Mg en tant que macronutriments, tandis que Fe avec Mn ont été les principaux micronutriments. Dans les deux cas (méthodes d'hydrodistillation par micro-ondes et Clevenger), la composition chimique des OCEO a été dominée par le thymol (plus de 75%) et le carvacrol (plus de 13%). La micro-onde pourrait être suggéré pour l'isolement d'HE comme méthode verte, plus efficace et plus rapide. Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour l'optimisation des paramètres impliqués dans l'extraction assistée par micro-ondes, tels que le temps et la puissance de l'appareil pour obtenir les meilleurs enregistrements de rendement et de composition chimique.

La composition phytochimique et les activités biologiques de l'huile essentielle de *C. mixtus* (CMEO) et divers extraits ont été étudiées. A cet effet, des CMEO extraites des fleurs par micro-ondes ont été soumises à une analyse chimique par GC-MS. Les activités antimicrobiennes du CMEO et de divers extraits obtenus par macération et Soxhlet ont été testées contre les quatre souches microbiennes à l'aide d'un essai de diffusion dans des puits d'agar et d'une méthode de microtitration. Les activités antioxydantes ont été déterminées, pour les extraits, à l'aide de DPPH. La composition chimique du CMEO a révélé 44 composés. L'alcool de Santolina (40,7), le germacrène D (8,9) et le α -pinène (5,7%) ont été les principaux constituants. Les meilleurs records de rendement, de composés phénoliques totaux et de flavonoïdes ont été obtenus avec du Soxhlet et du méthanol pour les extraits. Des activités antimicrobiennes importantes ont été enregistrées par CMEO et les extraits. Pour CMEO, les CMI variaient de 10,17 (*B. subtilis*) à 13,83 $\mu\text{g/mL}$ (*E. coli*). Parmi les extraits, Met-OH était le plus efficace avec des CMI allant de 11,17 (*C. albicans*) à 15,83 $\mu\text{g/mL}$ (*E. coli*). L'extrait Met-OH présentait la plus forte activité antiradicalaire ($\text{IC}_{50} = 55,50 \mu\text{g/mL}$), tandis que le n-hexane présentait la plus faible ($\text{IC}_{50} = 259 \mu\text{g/mL}$). Sur la base de ces résultats, le CMEO et divers extraits de fleurs de *C. mixtus* pourraient être suggérés pour leur utilisation comme conservateurs naturels potentiels pour améliorer la durée de conservation des aliments, les formulations à base de plantes, ainsi que comme antiseptiques et désinfectants.

De meilleures valeurs de rendement, de TPC, de TFC et d'activités biologiques associées ont été obtenues avec Me-OH (polarité plus élevée), en particulier lorsqu'il est combiné avec Soxhlet comme technique d'extraction. Ces résultats ont été mieux élucidés par l'ACP, qui a permis une discrimination claire des solvants et des techniques d'extraction principalement à travers les deux premiers composants représentant plus de 98% de la variabilité totale des données. L'HE et divers extraits de *C. mixtus* ont montré des activités antimicrobiennes et antioxydantes potentielles liées à une richesse biochimique. Les trois principaux composés (> 5%) trouvés dans l'HE de *C. mixtus* ont été l'alcool de santoline (40,7%), suivi du germacrène D (8,9%) et du α -pinène (5,7%). Les résultats de notre étude ont suggéré l'exploitation de l'HE de *C. mixtus* et des extraits comme conservateurs naturels pour améliorer la durée de conservation des formulations à base de plantes ainsi que des nutraceutiques.

Mots clés :

T. vulgaris, *T. hyemalis*, *O. compactum*, *C. mixtus*, Huile essentielle, CPG/SM, Activités antioxydantes, Activités antimicrobiennes, Région de Taounate, Composition chimique, Nutriments, Phytochimie, Extraction assistée par micro-ondes, Extraction assistée par clevenger.

VALUATION OF CERTAIN AROMATIC AND MEDICINAL PLANTS OF THE TAOUNATE REGION: EXTRACTION, IDENTIFICATION AND ISOLATION OF BIOACTIVE MOLECULES

Abstract :

Morocco is a country rich in medicinal and aromatic plants, many of which are endemic. The essential oils and extracts of the above species are widely used in the pharmaceutical and cosmetic industries and in the preservation of several food products. The present work consists of the study of the species: *Origanum compactum* Benth. (*O. compactum*), *Thymus vulgaris* (*T. vulgaris*), *Thymus hyemalis* (*T. hyemalis*), *Rosmarinus officinalis* (*R. officinalis*), *Capparis spinosa* (*C. spinosa*), *Cladanthus mixtus* L. (Chevall). (*C. mixtus*) growing spontaneously in the region of Taounate (Northern Morocco).

We investigated antioxidant and antimicrobial activities of extracts and essential oils from two species of thyme: *T. vulgaris* and *T. hyemalis*. Plant extracts were obtained using two techniques (maceration and sonication) combined with two solvents (methanol and ethyl acetate). Antimicrobial activities were tested against four strains namely: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Bacillus subtilis* ATCC 3366, and *Candida albicans* ATCC 10231. DPPH was used to assess antioxidant activities. Statistical analyses performed demonstrated that plant extracts and essential oils yields were impacted significantly by plant species, extraction technique, solvent and their interactions. Extraction using sonication combined with methanol allowed a better recovery of plant extracts as compared to classic maceration. Moreover, *Thymus vulgaris* was higher in terms of yield, phenolics content, antimicrobial and antioxidant activities. Plant extracts and essential oils showed potential inhibitory effects on the majority of microbial strains involved in this study. The best records of inhibitory zone diameters of extracts were found in *E. coli*. However, for essential oils, *S. aureus* had the most important record of inhibitor effect. These effects could be attributed to phenolic and flavonoid compounds. Further investigations are needed toward to their use for medicinal and therapeutic applications.

O. compactum is one of the most important medicinal species in terms of ethnobotany in Morocco. It attracts the attention of several research works; however, its chemical composition under local conditions is not well documented. Here, we aimed at determining essential oil chemical composition, antibacterial, and antioxidant activities of organic extracts of *O. compactum*. Antimicrobial activities were assessed against the four strains. Antioxidant activities were estimated by DPPH. Polyphenols and flavonoids were determined. Chemical composition was screened using gas chromatography. Our results showed that yield extracts varied significantly among solvents and ranged from 10.30% (n-hexane) to 31.70% (methanolic). Methanolic extracts had the highest values of yield, polyphenols, and flavonoids, while n-hexane extracts showed the lowest values of yield and polyphenols. Regarding antimicrobial activities, *E. coli* showed the most important activity. Concerning antioxidant activities, n-hexane extracts had the most important activity. The phytochemical screening revealed 12 compounds. Among them, γ -Terpinene, o-Cymene, and carvacrol were the major compounds (around 73% of total chemical compounds). It could be concluded that the studied plant might be a promising source of chemical compounds responsible for important biological activities.

In this work, we aimed at determining some nutrients from *O. compactum* (OC) and comparing its essential oils (OCEOs) isolated using microwave-assisted extraction (MW) and Clevenger hydrodistillation (HD). To this end, dried flowering tops from OC were subjected to nutrients screening, OCEOs were isolated separately using MW and HD and then analyzed using GC-MS. Our results showed that OC contained important amounts of moisture (58.66%), minerals (10.26%), mainly K (6.22), Ca (2.62), Mg (2.09 mg/g DM), Fe (0.998), Mn (0.085 mg/g DM), proteins (5.65%DM), chlorophyll a (1.09) and b (0.20 mg/g DM), and several amino acids. Among them, two (Ile and Leu) were essential. MW showed its superiority in terms of OCEO yield (7.41%), total compounds (95.57%), and almost individual compounds. These results were confirmed by the principal component analysis, which discriminated clearly MW and HD through the first component. In both techniques, thymol and carvacrol were the major constituents accounting for 78.81 ± 0.22 and $14.84 \pm 0.39\%$, respectively, in the case of MW against 75.07 ± 0.99 and $13.03 \pm 0.30\%$ for HD. Following our outcomes, OCEO was a thymol chemotype, and OC contained important amounts of nutrients. MW could serve as a green, efficient method over HD for OCEO isolation.

We investigated phytochemicals and biological activities in *C. mixtus* essential oil (CMEO) and various extracts. To this end, flowers CMEO microwave-extracted was subjected to chemical analysis using GC-MS. Antimicrobial activities of CMEO and various extracts obtained by maceration and Soxhlet were tested against four microbial strains using agar well diffusion assay and microtitration method. Antioxidant activities were determined, for extracts, using DPPH. CMEO chemical composition revealed 44 compounds. Santolina alcohol (40.7), germacrene D (8.9), and α - pinene (5.7%) were the main constituents. The best records of yield, total phenolics, and flavonoids were obtained with Soxhlet and methanol for extracts. Important antimicrobial activities were recorded in CMEO and extracts. For CMEO, MICs ranged from 10.17 (*B. subtilis*) to 13.83 $\mu\text{g/mL}$ (*E. coli*). Among extracts, Met-OH was the most efficient with MICs ranged from 11.17 (*C. albicans*) to 15.83 $\mu\text{g/mL}$ (*E. coli*). Met-OH extract presented the highest antiradical activity ($\text{IC}_{50} = 55.50 \mu\text{g/mL}$), while the n-hexane displayed the lowest one ($\text{IC}_{50} = 259 \mu\text{g/mL}$). Based on these outcomes, CMEO and various extracts from *C. mixtus* flowers could be suggested for their use as potential natural preservatives to enhance foods shelf-life, herbal formulations, and also as antiseptics and disinfectants.

Key Words : *T. vulgaris*, *T. hyemalis*, *O. compactum*, *C. mixtus*, Essential oils, CPG/SM, Antioxidant and antimicrobial activities, Taounate region, Chemical composition, Nutrients, Phytochemistry, Microwave-assisted extraction, Clevenger assisted extraction.