

Faculté de Pharmacie

Année 2019

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 30 avril 2019

Par **Marion DAVID**

Né(e) le 25 novembre 1992 à Guéret (23)

Le thymol – Sources, propriétés et applications

Thèse dirigée par Marion MILLOT

Examineurs :

Mme le Docteur Christelle POUGET, MCU

Mme le Docteur Marion MILLOT, MCU

Mme le Docteur Marie-Emilie PAPEL, docteur en pharmacie



Faculté de Pharmacie

Année 2019

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 30 avril 2019

Par **Marion DAVID**

Né(e) le 25 novembre 1992 à Guéret (23)

Le thymol – Sources, propriétés et applications

Thèse dirigée par Marion MILLOT

Examineurs :

Mme le Docteur Christelle POUGET, MCU

Mme le Docteur Marion MILLOT, MCU

Mme le Docteur Marie-Emilie PAPEL, docteur en pharmacie



Liste des enseignants

Le 1^{er} septembre 2017

PROFESSEURS :

BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
DESMOULIERE Alexis	PHYSIOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
FAGNERE Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE ORGANIQUE
LIAGRE Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MAMBU Lengo	PHARMACOGNOSIE
ROUSSEAU Annick	BIOSTATISTIQUE
TROUILLAS Patrick	CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE
VIANA Marylène	PHARMACOTECHNIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

PICARD Nicolas	PHARMACOLOGIE
ROGEZ Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE
SAINT-MARCOUX Franck	TOXICOLOGIE

ASSISTANT HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

CHAUZEIX Jasmine	HEMATOLOGIE (Renouvelé jusqu'au 1 ^{er} novembre 2018)
JOST Jérémy	PHARMACIE CLINIQUE (1 ^{er} novembre 2016 pour 2 ans)

MAITRES DE CONFERENCES :

BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BEAUBRUN-GIRY Karine	PHARMACOTECHNIE

BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
CHEMIN Guillaume	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
CLEDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
COMBY Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
COURTIOUX Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
DELEBASSEE Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
DEMIOT Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
GRIMAUD Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET CONTROLE DU MEDICAMENT
JAMBUT Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
LEGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MERCIER Aurélien	PARASITOLOGIE
MILLOT Marion	PHARMACOGNOSIE
MOREAU Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
MUSUAMBA TSHINANU Flora	PHARMACOLOGIE
PASCAUD Patricia	PHARMACIE GALENIQUE – BIOMATERIAUX CERAMIQUES
POUGET Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
VIGNOLES Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE

Remerciements

La réalisation de cette thèse a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Je tiens tout d'abord à exprimer toute ma reconnaissance à ma directrice de thèse, Mme le Docteur Marion MILLOT. Je la remercie de m'avoir encadrée, orientée, aidée et conseillée. Merci également pour sa patience et sa disponibilité.

Je tiens à remercier également Madame le Docteur Marie-Emilie PAPEL, de m'avoir accompagnée tout au long de mes stages et d'avoir ainsi contribué à ma professionnalisation.

Je souhaite aussi remercier Madame le Docteur Christelle POUGET d'avoir accepté la présidence de mon jury de thèse.

Je remercie le Docteur Jean-Philippe BIGNON de m'avoir aidée dans la réalisation de la partie consacrée à la pharmacocinétique. Je remercie mes collègues actuelles Emmanuelle et Bérengère qui ont suivi avec attention l'avancée de ma thèse.

Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers mes amies Elodie, Laëtitia, Lubna, Muriel et Sophie qui m'ont apportée leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Je voudrais remercier toute ma famille pour leur soutien en toutes circonstances. Je remercie également Nicolas de m'avoir donné toute la motivation et le soutien nécessaire dans l'élaboration de cette thèse.

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Table des matières

Introduction	14
I. Caractéristiques générales	15
I.1. Généralités sur les monoterpènes à fonction phénol.....	15
I.2. Le thymol	16
I.2.1. Biosynthèse.....	16
I.2.2. Principales plantes sources de thymol.....	18
I.2.3. Caractéristiques physico-chimiques	26
I.2.4. Obtention du thymol	27
I.2.5. Caractéristiques pharmacocinétiques	29
II. Propriétés thérapeutiques	33
II.1. Action anti-infectieuse	33
II.1.1. Activité sur les bactéries	33
II.1.2. Activité sur les levures et champignons	44
II.1.3. Activité sur les virus.....	48
II.1.4. Activité sur les parasites	51
II.2. Autres propriétés.....	61
II.2.1. Activité antioxydante.....	61
II.2.2. Activité antispasmodique	62
II.2.3. Activité anti-inflammatoire.....	63
II.2.4. Maladie d'Alzheimer	64
III. Toxicité.....	65
III.1. Rapport d'intoxication.....	65
III.1.1. Sur les muqueuses et la peau	65
III.1.2. Par voie orale	65
III.1.3. Par voies respiratoires	67
III.2. Génotoxicité et cytotoxicité	67
III.3. Hépatotoxicité	68
IV. Utilisations pratiques	72
IV.1. Spécialités à base de thymol	72
IV.1.1. Médicaments.....	72
IV.1.2. Autres	76
IV.2. Huiles essentielles et principales applications	76
IV.3. Médicaments vétérinaires	80
Conclusion	83
Annexe	85
Références bibliographiques	86
Serment De Galien.....	90

Liste des abréviations

AChE : acétylcholinestérase

AEF : HE extraites des feuilles d'Aframomum exscapum récoltées à Alepé

CE50 : concentration efficace médiane

CI50 : concentration inhibitrice médiane

CL50 : concentration létale médiane

CMB : concentration minimale bactéricide

CMI : concentration minimale inhibitrice

CoA : coenzyme A

DL50 : dose létale médiane

DMAPP : diméthylallyldiphosphate

GPP : géranyl-pyrophosphate

GSH : glutathion

HE : huile essentielle

HMG : hydroxy-méthyl-glutaryl

HSV : herpes simplex virus

IPP : diphosphate d'isopentényl

NO : monoxyde d'azote

OGF : HE extraite des feuilles d'Ocimum gratissimum récoltées à Nioma

PE : pharmacopée européenne

Table des illustrations

Figure 1. Phénol.....	15
Figure 2. Structure des composés volatils à fonction phénol	15
Figure 3. Acide mévalonique	16
Figure 4. Pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère.....	17
Figure 5. Géranyl-pyrophosphate (GPP)	17
Figure 6 Cyclisation du GPP	18
Figure 7. Biosynthèse du thymol	18
Figure 8. <i>Thymus vulgaris</i>	20
Figure 9. <i>Tachyspermum ammi</i> (gauche) et fruit de l'Ajowan (droite)	22
Figure 10. <i>Thymus serpyllum</i>	25
Figure 11. Cristaux de thymol et observation d'un cristal au microscope optique (grossissement 4 x 10)	26
Figure 12. Extraction du thymol	28
Figure 13. Structure du thymol, du sulfate de thymol et du glucuronate de thymol	29
Figure 14. Concentration sanguine du sulfate de thymol en fonction du temps après la prise d'un comprimé de Bronchipret®	30
Figure 15. Concentration du thymol dans le plasma après hydrolyse enzymatique (◆) et concentration sanguine du sulfate de thymol mesuré chez un sujet (□) en fonction du temps	30
Figure 16. Excrétion rénale cumulée de sulfate de thymol et de glucuronide de thymol	32
Figure 17. Comparaison entre les parois des bactéries à Gram positif et négatif.....	36
Figure 18. <i>Salmonella typhimurium</i> au microscope électronique sans traitement (A) et après traitement par 750 mg/L de thymol (B)	37
Figure 19. <i>E. coli</i> et <i>B. subtilis</i> au microscope électronique	41
Figure 20. Résultat des propriétés antifongiques du carvacrol, thymol et fluconazole sur différentes espèces de <i>Candida</i>	45
Figure 21. Hémolyse causée par différents agents.....	46
Figure 22. <i>S. cerevisiae</i> au microscope électronique (1-témoin, 2- traité par l'huile essentielle d'origan, 3- traité par l'huile essentielle de clou de girofle).....	48
Figure 23. Effets du thymol et du carvacrol sur la viabilité cellulaire après incubation à 37°C pendant 4 jours à différentes concentrations.	49
Figure 24. Activités antivirales de différentes concentrations de thymol et de carvacrol contre HSV-1	50
Figure 25. Activités dépendant du temps d'exposition au thymol et carvacrol contre HSV-150	

Figure 26. Concentration létale à 50 % (CL ₅₀) des huiles de Basilic extraites à différents mois contre la larve de <i>R. microplus</i> et précipitation locale pendant la récolte	52
Figure 27. Structure du thymol (gauche) et acétate de thymol (droite).....	54
Figure 28. Image d'une cuticule d'une femelle adulte de <i>H. contortus</i> au microscope électronique (A- témoin, B- après incubation au thymol, C- après incubation avec l'acétate de thymol)	54
Figure 29. Effets de l'huile essentielle <i>Lippia sidoides</i> et du thymol sur le promastigote du Leishmania.....	56
Figure 30. Effet de l'huile essentielle <i>Lippia sidoides</i> à différents dosages sur les formes intracellulaire d'amastigotes	57
Figure 31. Structure chimique des dérivés du thymol	58
Figure 32. Activité anti-leishmanienne des dérivés du thymol et des témoins.....	58
Figure 33. Cycle de vie du Trypanosome	60
Figure 34. Effet du thymol sur la peroxydation des lipides hépatiques.....	69
Figure 35. Eugénol ou 4-allyl-2-méthoxyphénol.....	70

Table des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques du thymol	27
Tableau 2. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne des composés sélectionnés sur des bactéries à Gram négatif	34
Tableau 3. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne des composés sélectionnés sur des bactéries à Gram positif	34
Tableau 4. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne de certaines huiles essentielles sur des bactéries à Gram négatif	35
Tableau 5. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne de certaines huiles essentielles sur des bactéries à Gram positif	35
Tableau 6. Activité antibactérienne sur <i>S. aureus</i>	38
Tableau 7. Activité antibactérienne sur <i>Escherichia coli</i>	39
Tableau 8. Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale létale (CMI) du thymol et de l'huile essentielle d'Origan sur <i>E. coli</i> et <i>B. subtilis</i>	40
Tableau 9. Diamètre d'inhibition (mm) des huiles essentielles et de l'amoxicilline testés sur <i>S. pyogenes</i>	42
Tableau 10. Concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles sur <i>S. pyogenes</i>	42
Tableau 11. Concentrations minimales bactéricides des huiles essentielles sur <i>S. pyogenes</i>	43
Tableau 12. Rapport CMB/CMI des huiles essentielles sur <i>S. pyogenes</i>	43
Tableau 13. Concentration minimale inhibitrice (80%) du thymol et carvacrol sur les espèces de <i>Candida</i> sensibles et résistantes au fluconazole	45
Tableau 14. Concentration minimale inhibitrice à 80% des huiles essentielles sur <i>C. albicans</i> et <i>A. fumigatus</i>	47
Tableau 15. Effets cytotoxiques de l'huile essentielle <i>Lippia sidoides</i> et du thymol.....	56

Introduction

Dans le monde végétal, les terpènes sont connus comme principe odorant des végétaux mais aussi dans les huiles essentielles pour leurs propriétés thérapeutiques.

Le thymol, appartenant au groupe des terpénoïdes, est un monoterpène cyclique possédant une fonction phénol. Le chimiste allemand Caspar Neumann a extrait pour la première fois en 1719 ce principe actif de l'huile essentielle de thym. Sa structure a ensuite été élucidée en 1853 par M. Lallemand qui lui a donné le nom de thymol.

Le thymol est ainsi accumulé par les végétaux au sein de l'huile essentielle. Pour la pharmacopée européenne (9^e éd.), une huile essentielle est un « *produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par un entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.* ».

Ces huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux. Bien que la fonction biologique des constituants des huiles essentielles ne soit pas toujours précisément connue, elles joueraient vraisemblablement un rôle dans la protection contre les prédateurs (insectes, champignons) ou encore dans l'attraction des pollinisateurs.

Par vulgarisation, le terme « phénol » est généralement utilisé en aromathérapie pour désigner la famille biochimique des monoterpènes à fonction phénol dont fait partie le thymol.

Alors que les différentes sources bibliographiques étudient en général la famille biochimique des monoterpènes à fonction phénol, cette thèse vise à étudier en profondeur les propriétés et les applications du thymol.

En premier lieu, les particularités du thymol seront traitées afin de comprendre son origine et ses caractéristiques générales. En deuxième lieu, les différentes propriétés thérapeutiques qui lui sont attribuées seront analysées une par une pour ensuite prendre en considération la toxicité de cette molécule. Enfin, les champs d'applications du thymol seront illustrés.

I. Caractéristiques générales

I.1. Généralités sur les monoterpènes à fonction phénol

Les monoterpènes à fonction phénol constituent l'une des grandes familles biochimiques des huiles essentielles. Ils ont pour structure commune un cycle aromatique (benzène) sur lequel est branché un groupement hydroxyle (figure 1).

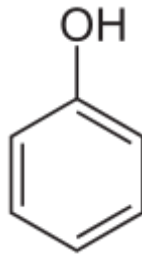


Figure 1. Phénol

Dans cette famille biochimique, le thymol, le carvacrol et l'australol sont issus de la voie des terpénoïdes et l'eugénol, le gaiacol et le chavicol sont directement dérivés du phénylpropane (squelette en C6 ou C9) (figure 2).

Leur nom se termine par le suffixe « -ol », faisant référence à la fonction phénol. Ce suffixe est également utilisé pour désigner les terpènes possédant une fonction alcool (tel que le menthol).

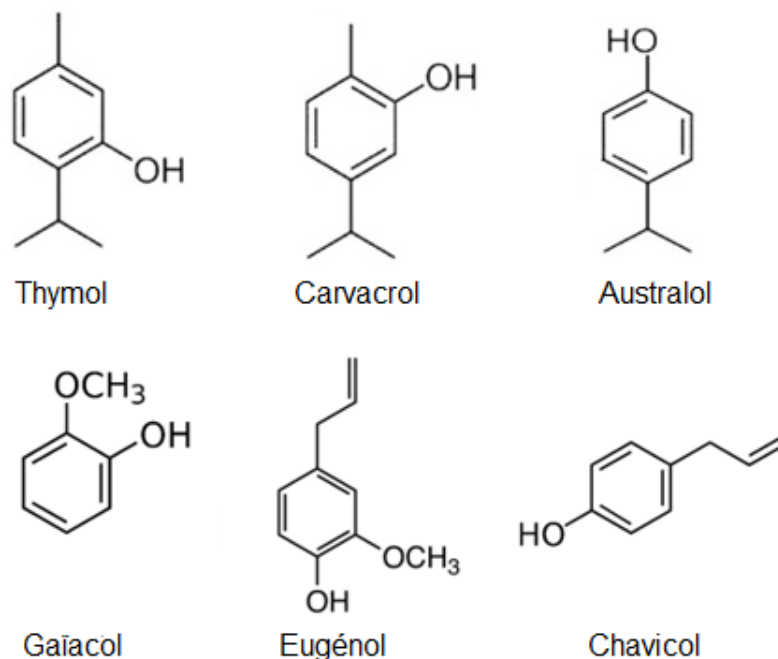


Figure 2. Structure des composés volatils à fonction phénol

Le thymol se distingue des autres monoterpènes phénoliques par la position de la fonction phénol sur le cycle, située en *ortho* du groupement isopropyle et en *meta* de la fonction méthyle.

Même si cette famille biochimique semble avoir une activité anti-infectieuse commune, chaque molécule est douée de propriétés particulières, le thymol possède des propriétés biochimiques et pharmacologiques qui lui sont propres et fait l'objet de nombreuses études scientifiques.

I.2. Le thymol

Le thymol, monoterpène à fonction phénol, se caractérise donc par un groupement méthyl et un groupement isopropyl situé en *para* l'un de l'autre. Le groupement isopropyl est en *ortho* de la fonction -OH. Il s'agit donc du 2-isopropyl-5-methylphenol. Sa formule brute est $C_{10}H_{14}O$.

D'autres noms peuvent lui être donnés comme le *p*-cymen-3-ol ou encore 3-hydroxy-*p*-cymène. Le carvacrol, phénol que l'on retrouve également dans l'huile essentielle de thym, souvent associé au thymol, est son isomère. Le groupement méthyl est alors situé en *ortho* de la fonction hydroxyle.

I.2.1. Biosynthèse

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et les stéroïdes constituent le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux. La très grande majorité des terpènes est spécifique du règne végétal. Trois séquences réactionnelles conduisent aux terpènes et par conséquent au thymol :

- Voie du mévalonate
- Synthèse d'unités en C5
- Couplage tête-à-queue des unités isopréniques

Voie du mévalonate

L'acide mévalonique (ou mévalonate) (figure 3) est le précurseur des terpènes et stéroïdes. Il est obtenu par la condensation de l'acétoacétate avec une molécule d'acétylcoenzyme A via l'hydroxy-méthylglutaryl-coenzyme A- (HMG-CoA) synthase et HMG-CoA réductase.

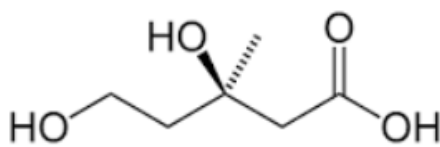


Figure 3. Acide mévalonique

Synthèse d'unité IPP (C5)

La conversion de l'acide mévalonique en structures hémiterpéniques débute par une double phosphorylation au niveau de la fonction alcool primaire du mévalonate aboutissant au 5-pyrophosphoryl-mévalonate

Le mévalonate-5-diphosphate-décarboxylase induit ensuite une décarboxylation ce qui conduit à la formation du diphosphate d'isopentényle (IPP), molécule activée à 5 carbones (figure 4).

Cet IPP est isomérisé par l'isopentényl-diphosphate-isomérase en diméthylallyldiphosphate (DMAPP).

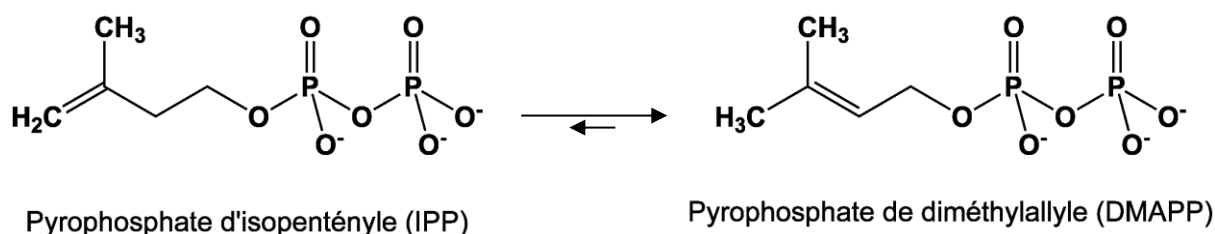


Figure 4. Pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et son isomère

Couplage tête-à-queue des unités isopréniques

L'addition de l'IPP sur le DMAPP est catalysée par la GPP-synthase. La réaction implique l'attaque de la double liaison de l'IPP sur la position allylique du DMAPP avec départ du groupe diphosphate. On obtient alors le géranyl-pyrophosphate (GPP) (figure 5).

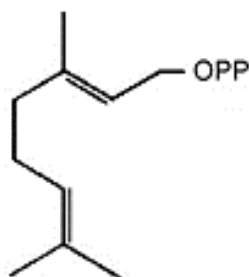


Figure 5. Géranyl-pyrophosphate (GPP)

Cyclisation

Le GPP est le point de départ de la formation des monoterpènes réguliers. La formation d'un monoterpène cyclique implique l'attaque nucléophile intramoléculaire du C1 du cation néryle par la double liaison distale conduisant à la formation du cation intermédiaire α -

terpényle (figure 6). Ces réactions font intervenir des monoterpènes-cyclases qui opèrent selon un mécanisme d'isomérisation-cyclisation.

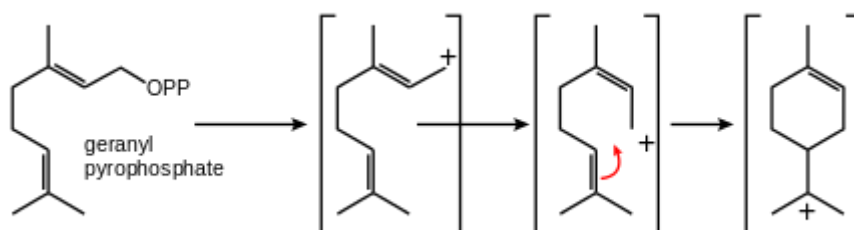


Figure 6. Cyclisation du GPP

Le cation terpényle est à l'origine du γ -terpinène. Par déshydrogénéation, ce dernier peut donner le *p*-cymène (figure 7) qui est le précurseur immédiat du thymol et du carvacrol.

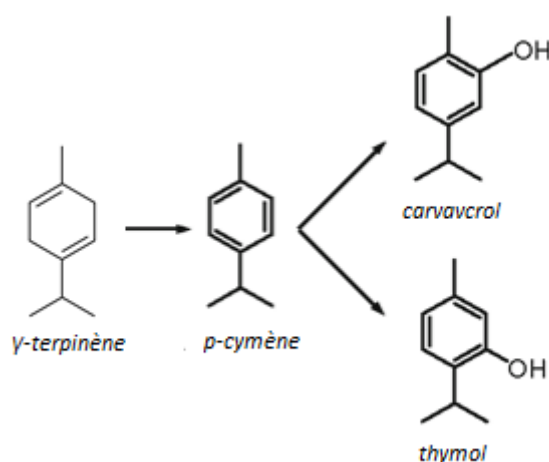


Figure 7. Biosynthèse du thymol

Le *p*-cymène est un composé de structure benzénique retrouvé également en quantité dans les huiles essentielles. Le groupement méthyl et le groupement isopropyl sont situés en para l'un de l'autre. Il est inaltérable à l'air, insoluble dans l'eau mais miscible dans l'éthanol et l'éther. On lui accorde une action relaxante et apaisante, mais il s'agit aussi d'un puissant antalgique contre les douleurs ostéopathiques rhumatismales et arthrosiques.

I.2.2. Principales plantes sources de thymol

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux (fleurs, feuilles, écorces, graines...). Cependant, la composition de l'huile essentielle varie d'un organe à l'autre chez la même espèce végétale. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (poils sécréteurs, poches sécrétrices, canaux sécréteurs, cellules à huiles essentielles). Le thymol est retrouvé principalement dans les parties aériennes fleuries de certaines Lamiacées.

Le mode de culture et la récolte de la plante sont importants pour définir les caractéristiques de l'huile essentielle. La saison de récolte influence notamment la synthèse des différents composants par les plantes. En effet, d'après une étude (1) sur l'influence solaire effectuée par le professeur Pellecuer à Montpellier, en ce qui concerne le thym vulgaire (*Thymus vulgaris* L.), en hiver, la plante synthétise du géraniol alors qu'en été elle synthétise à la place l'acétate de géranyle. En ce qui concerne la Sarriette des montagnes (*Satureja montana* L. ssp. *montana carvacrolifera*), elle synthétise en hiver d'avantage d'hydrocarbures terpéniques, et en fin d'été elle est riche en carvacrol issu de l'oxydation de ces mêmes hydrocarbures. Concernant le basilic à thymol (*Ocimum gratissimum thymoliferum* L.), on retrouve 90% d'eugénol méthyl-éther chez la plante jeune, alors qu'on retrouve du thymol et de nombreuses autres molécules monoterpéniques chez la plante à maturité.

Ainsi, l'existence de chémotypes est fréquente chez les plantes à huiles essentielles. On se sert de cette « carte d'identité » pour différencier les huiles essentielles extraites de la même plante. En effet, les composants biochimiques et aromatiques d'une plante varient en fonction de divers éléments tels que : l'origine géographique, l'altitude, type de sol, climat, ensoleillement, taux d'humidité, la saison etc. En conséquence, les propriétés médicales et pharmacologiques d'une huile essentielle vont changer également.

Les principales plantes sources de thymol sont les suivantes, classées en fonction de leur proportion en thymol :

Thymus vulgaris* L. *thymoliferum

Dénomination française : thym à thymol

Origine : France (Provence, basse garrigue méditerranéenne)

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : sous-arbrisseaux à tiges dressées, ligneuses, tortueuses et très rameuses. Les rameaux portent des feuilles opposées, subsessiles. Les fleurs, petites, mauves, zygomorphes, sont groupées en glomérules ovoïdes. Les feuilles sont lancéolées ou linéaires, le limbe est coriace et fortement enroulé sur les bords vers la face ventrale. La face dorsale est marquée par une nervure centrale déprimée. Les deux faces sont recouvertes d'un indument gris-vert et ressemblent à des aiguilles. Les fleurs à calice tubuleux, vert, bilabié et obturé après la floraison par une couronne de longs poils raides, ont une corolle brunâtre à l'état desséché, faiblement bilabiée, deux fois plus longue que le calice.

Organe producteur : parties aériennes fleuries

Spécificité biochimique : thymol, *p*-cymène

Rendement : 1 à 4% d'HE dans le thym d'origine française. Jusqu'à 6,5%.

Composition biochimique : la pharmacopée européenne regroupe dans une même monographie le thym vulgaire et le thym d'Espagne

- **Thymol : 36 à 55 %**
- P-cymène : 15 à 28 %
- Gamma-terpinène : 5 à 10 %
- Linalol : 4 à 6,5 %
- Carvacrol : 1 à 4 %
- Terpinéol-4 : 0,2 à 2,5 %



Figure 8. *Thymus vulgaris*

Thymus zygis* L. ct *thymol

Dénomination française : thym rouge d'Espagne

Origine : Espagne, Portugal, France (Provence, basse garrigue méditerranéenne)

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : la feuille est plus petite que celle de *Thymus vulgaris*, linéaire à aciculée, elle est garnie sur les bords du limbe de longs poils blancs. L'examen microscopique de la poudre montre des poils tecteurs coudés pour *Thymus vulgaris* et dressés pour *Thymus zygis*.

Organe producteur : parties aériennes fleuries

Spécificité biochimique : thymol (50%), p-cymène

Rendement : minimum 12 mL/kg d'HE

Composition biochimique : la pharmacopée européenne regroupe dans une même monographie le thym vulgaire et le thym d'Espagne

- **Thymol : 36 à 55 %**
- P-cymène : 15 à 28 %
- Gamma-terpinène : 5 à 10 %
- Linalol : 4 à 6,5 %
- Carvacrol : 1 à 4 %
- Terpinéol-4 : 0,2 à 2,5 %

***Lippia gracilis* Schauer**

Peu d'informations peuvent être trouvées sur cette plante du fait qu'elle n'est pas utilisée pour produire des huiles essentielles en France, mais elle est en revanche régulièrement utilisée dans les études en raison de sa forte proportion en thymol. Les feuilles du génotype LGRA-106 (2) de *Lippia gracilis* présentent une composition forte de thymol (**59 %**) et faible en carvacrol (0,88 %). Les autres génotypes semblent avoir le carvacrol en proportion majoritaire.

Appellation commune : alecrim da chapada (signifiant romarin plaqué en portugais)

Origine : Brésil

Famille botanique : Verbénacées

Organe producteur : feuilles

***Lippia sidoides* Cham.**

De même pour cette plante, peu d'informations peuvent être trouvées (3) .

Appellation commune : alecrim-pimenta (signifiant poivre de romarin en portugais)

Origine : Brésil

Famille botanique : Verbénacées

Organe producteur : feuille

Spécificité biochimique : thymol, carvacrol

Composition biochimique :

- **Thymol : 56,7 %**
- Carvacrol : 16,7 %

☯ *Tachyspermum ammi* L. (ou *Carum copticum* L.)

Dénomination française : ajowan

Origine : Inde

Famille botanique : Apiacées

Particularités botaniques : plante annuelle tolérant la sécheresse, feuilles duveteuses et fleurs blanches disposées en ombelles. Les fruits sont des diakènes gris-vert, petits, ovales et striés.

Organe producteur : semence

Spécificité biochimique : thymol, γ -terpinène, p-cymène

Rendement : 30 à 40 ‰

Composition biochimique :

- **Thymol : 40-45 %**
- Carvacrol 5 %
- Alpha-terpinène : 20-35 %
- Paracymène : 20-25 %



Figure 9. *Tachyspermum ammi* (gauche) et fruit de l'Ajowan (droite)

☯ *Ocimum gratissimum* L. *thymoliferum*

Dénomination française : basilic de Ceylan

Origine : Inde et Sri Lanka

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : petit arbrisseau rameux, haut de 1 m 50 à 2 m, répandu dans toute la région tropicale. Feuilles ovales-aiguës pétiolées, d'un vert soutenu, atteignant 10 cm, petites fleurs jaune pâle ou lilas, en grappes dressées

Organe producteur : sommités fleuries

Spécificité biochimique : thymol

Composition biochimique :

- **Thymol : 20 à 48 %** chez la plante adulte (sinon 90 % de méthyl-eugénol chez la plante jeune)
- Monoterpènes : α - thujène

Origanum compactum Benth.

Dénomination française : organ compact, organ à inflorescences compactes

Origine : Maroc et Afrique du Nord

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : plante de 30 à 80 cm de hauteur. Les feuilles sont vert foncé, ovales, pointues, à peine découpées, non dentées. Les tiges sont velues et quadrangulaires. Les fleurs sont groupées en glomérules compacts, de couleur pourpre. Le fruit est un tétrakène

Organe producteur : parties aériennes fleuries

Spécificité biochimique : carvacrol, thymol

Rendement : 100 kg de fleurs fraîches pour environ 100 mL d'huile essentielle d'origan. On le récolte au printemps.

Composition biochimique :

- Carvacrol : 21 à 53 %
- **Thymol : 8 à 28 %**
- Gamma terpinène : 9 à 26 %
- Paracymène : 6 à 20 %

La pharmacopée européenne (9^e édition) précise que la somme des teneurs en carvacrol et thymol est au minimum de 60% dans les huiles essentielles d'*Origanum spp.*

Satureja montana L.

Dénomination française : sarriette des montagnes

Origine : France

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : plante vivace herbacée, de petite taille. Ses rameaux portent des feuilles opposées, ciliées sur les bords, lancéolées, souvent acuminées. Les fleurs sont blanches ou tachetées de rose, elles forment de longues grappes unilatérales de petits glomérules.

Organe producteur : sommités fleuries

Spécificité biochimique : carvacrol, *p*-cymène, thymol

Rendement : 0,18 à 0,80 % d'HE (plante fraîche fleurie) et jusqu'à 1 % environ (plante sèche).

Composition biochimique :

- Carvacrol : 30 à 50 %
- Paracymène : 7 à 20 %
- **Thymol : 5 à 15 %**
- Béta-Caryophyllène : 5 à 6 %

Thymus satureioides Coss. s.b bornéol

Dénomination française : thym à feuilles de sarriette, thym à bornéol-carvacrol

Origine : Bassin méditerranéen

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : petit sous-arbrisseau « à l'aspect rabougri et grisâtre », poussant en touffes au milieu des cailloux. Les feuilles sont opposées, linéaires, enroulées sur les bords, grisâtres sur le dessus, tomenteuses sur le dessous. Les fleurs sont groupées en glomérules ovoïdes et à corolle bilabée rosée.

Organe producteur : parties aériennes fleuries

Spécificité biochimique : bornéol, α -terpinéol, Thymol, Carvacrol

Rendement : pour 100 kg de plantes fraîches, on obtient entre 2 et 6 % d'huile essentielle

Composition biochimique :

- Monoterpénols : bornéol 25 à 30 %
- 17 % carvacrol
- **10 % thymol**
- 10 % alpha-terpinéol
- 5 % bêta-caryophyllène

Thymus serpyllum L.

Dénomination française : serpolet

Origine : Balkans, Maroc, Espagne

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : petit sous-arbrisseau commun des pelouses ensoleillées pouvant être retrouvé en altitude jusqu'à 3000 mètres. Les tiges sont couchées, grêles et ramifiées, de 10 à 40 cm. Les feuilles sont opposées, elliptiques, distinctement ponctuées. Les fleurs sont groupées en glomérules de 6 à 12 fleurs roses, pourpres ou blanches, à étamines saillantes

Organe producteur : parties aériennes fleuries

Spécificité biochimique : carvacrol, thymol

Rendement : très faible, 0,15 à 0,60% d'HE pour la plante sèche et un peu moins à l'état frais

Composition biochimique :

- **Thymol 6 %**
- Carvacrol 6 %
- 52 % Monoterpènes
- 23 % Monoterpénols



Figure 10. *Thymus serpyllum*

Origanum vulgare L.

Dénomination française : origan vulgaire

Origine : France

Famille botanique : Lamiacées

Particularités botaniques : sous-arbrisseau d'environ 80 cm de haut à tiges rouges carrées. Ses feuilles opposées de petite taille sont de forme elliptique. Les fleurs sont rose pourpre en panicules. Elle apprécie les sols calcaires secs et les bords de mer.

Organe producteur : parties aériennes fleuries

Spécificité biochimique : carvacrol

Rendement : 0,8 ‰ en 1,5 heures

Composition biochimique :

- Carvacrol : 50 à 70 %
- **Thymol : 3 à 8 %**
- Gamma terpinène : 3 à 7 %
- Paracymène : 4 à 15 %
- Linalol : 15 à 20 %

I.2.3. Caractéristiques physico-chimiques

Le thymol se présente sous forme de cristaux incolores (figure 11) avec une odeur aromatique caractéristique.

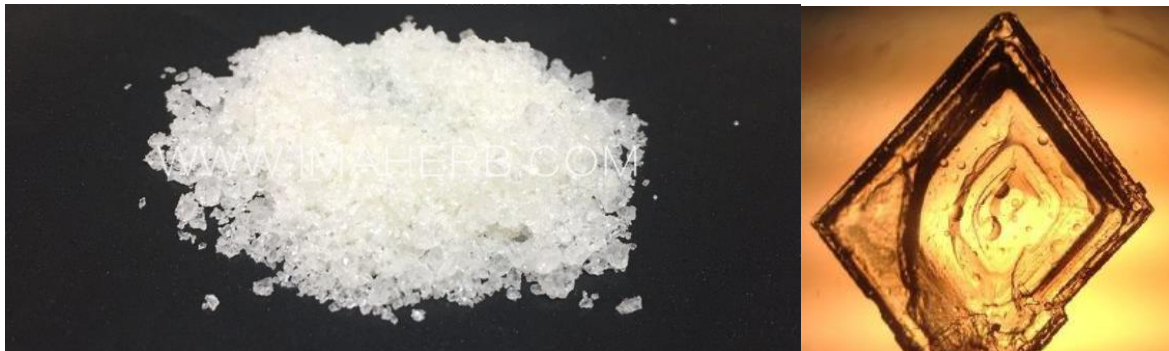


Figure 11. Cristaux de thymol et observation d'un cristal au microscope optique (grossissement 4 x 10)

Le thymol est soluble dans les alcools, les graisses et les huiles et peu soluble dans l'eau. Ses caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans le tableau 1.

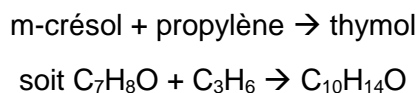
Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques du thymol

Formule moléculaire	C₁₀H₁₄O
Poids moléculaire	150 g/mol
Point d'ébullition	233°C
Point de fusion	49,6°C
Densité	0,9699 g/cm ³ à 25°C
Constante de dissociation (pKa)	10,62
Solubilité à 25°C de 1g de thymol :	
- Eau	1 litre
- Alcool	1 millilitre
- Chloroforme	0,7 millilitre
- Ether	1,5 millilitres
- Huile d'olive	1,7 millilitres

I.2.4. Obtention du thymol

Synthèse totale

Le thymol utilisé dans les spécialités pharmaceutiques est principalement obtenu par synthèse (4). Celle-ci est relativement simple et suit la réaction de synthèse suivante à partir du *m*-crésol.



Cependant, cette réaction génère plusieurs isomères : les 2-isopropyl-3-méthylphénol, 4-isopropyl-3-méthylphénol et 5-isopropyl-3-méthylphénol ainsi que des dérivés dialkylés et trialkylés de l'isopropyl-3-méthyl-benzylether.

Plusieurs types de catalyseurs ont été développés et utilisés pour la synthèse du thymol tels que Al₂O₃, l'alumine activée, les hydroalcites de Mg-Al par exemple.

Industriellement, le thymol est synthétisé par l'alkylation en phase liquide du *m*-cresol sous alumine activée à une température de 360°C et sous pression en présence d'alcool isopropylique.

Extraction du thymol

On peut également isoler le thymol par extraction d'une huile essentielle riche en thymol.

- **Extraction liquide/liquide**

L'extraction liquide-liquide par solvant repose sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases non-miscibles entre elles. Elle permet de transférer un soluté d'une phase liquide à une autre non miscible.

L'extraction du thymol est basée sur le fait que le thymol possède une fonction phénol. La première extraction par de l'hydroxyde de sodium (NaOH) permet de transformer la fonction phénol en phénate (sels de phénate). Le thymol, sous forme de sel, sera plus soluble dans la phase aqueuse. Ceci permet de le séparer des autres composants de l'huile essentielle (alcools terpéniques, esters terpéniques). L'acidification par l'acide chlorhydrique (HCl) permet de retransformer le sel de phénate en phénol : le thymol est de nouveau sous forme moléculaire et pourra être extrait par du dichlorométhane. Ce dernier sera évaporé pour qu'il ne reste plus que du thymol (figure 12).

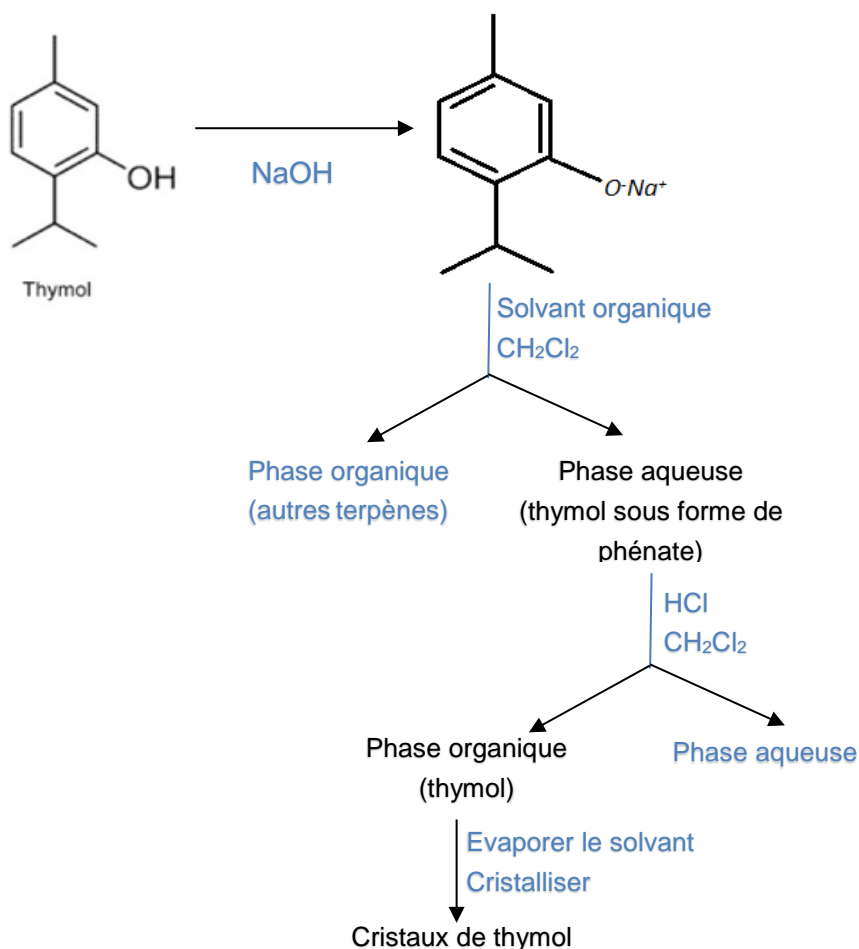


Figure 12. Extraction du thymol

- **Extraction par liquide pressurisé**

Ce processus permet une extraction plus rapide avec des rendements plus élevés et des volumes réduits de solvants. Différents solvants peuvent être utilisés comme l'éthanol, le limonène ou l'acétate d'éthyle.(5)

Il a été observé que le thymol est très soluble dans les trois solvants, en particulier dans l'éthanol et l'acétate d'éthyle avec des concentrations autour de 900 mg/g à des températures proches de 40°C. Comparativement, à la même température, la solubilité du thymol dans le limonène est quelque peu inférieure (environ 730 mg/g).(5)

I.2.5. Caractéristiques pharmacocinétiques

Afin de comprendre les caractéristiques pharmacocinétiques du thymol, une étude (6) a été réalisée sur douze volontaires sains, de sexe masculin, entre 22 et 35 ans environ, ayant un IMC de 24,6 +/- 2.0 kg/m².

Les sujets ont pris, alors qu'ils étaient à jeun, par voie orale un seul comprimé de Bronchipret® contenant un équivalent de 1,08 mg de thymol.

Pour information, Bronchipret®, médicament allemand, indisponible en France, est composé de 60 mg d'extrait sec de racines de primevère et de 160 mg d'extrait sec de thym. Il est utilisé pour traiter la toux en cas de bronchite aiguë et de refroidissement. La posologie usuelle est de 1 comprimé 3 fois par jour. Il est indiqué à partir de 12 ans. Il existe également en sirop.

Des prises de sang et des prélèvements urinaires ont été effectués jusqu'à 72 heures après la prise du comprimé.

Absorption

Dans le **plasma** sanguin, on retrouve uniquement du sulfate de thymol. On ne retrouve ni thymol libre ni glucuronate de thymol.

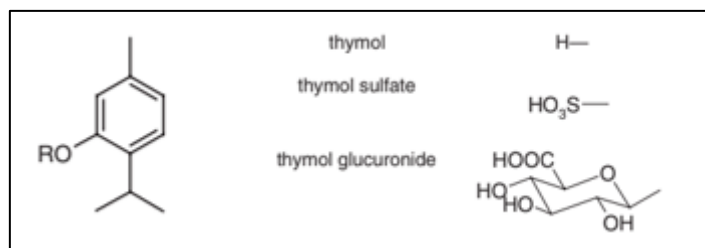


Figure 13. Structure du thymol, du sulfate de thymol et du glucuronate de thymol

La courbe de concentration sanguine du sulfate de thymol en fonction du temps (figure 14) montre une cinétique linéaire biphasique expliquant la phase d'absorption suivie de la phase d'élimination.

Le thymol est rapidement absorbé après la prise *per os* du comprimé de Bronchipret®. Il est détecté uniquement sous forme de sulfate dans le plasma après 20 minutes. Cette rapide absorption suggère que le thymol est principalement absorbé dans la partie supérieure de l'intestin. Cela pourrait être dû au faible poids moléculaire du thymol et à son caractère lipophile.

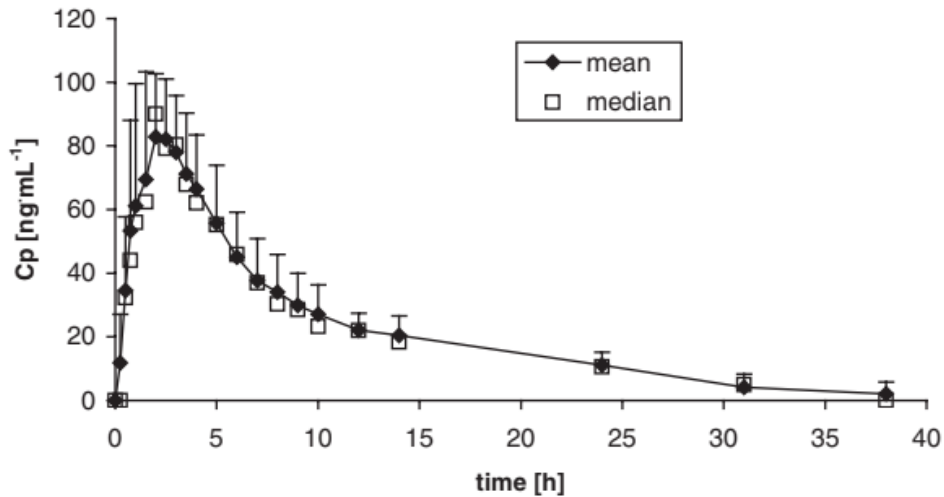


Figure 14. Concentration sanguine du sulfate de thymol en fonction du temps après la prise d'un comprimé de Bronchipret®

Métabolisme

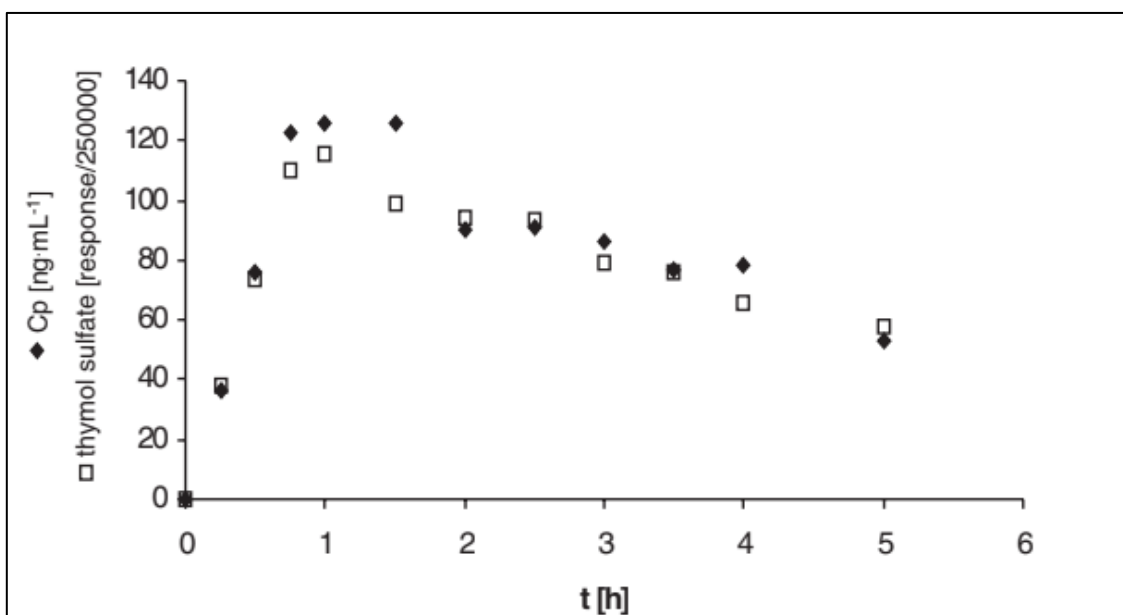


Figure 15. Concentration du thymol dans le plasma après hydrolyse enzymatique (♦) et concentration sanguine du sulfate de thymol mesuré chez un sujet (□) en fonction du temps

Ces deux courbes, ayant un profil parallèle, montrent que le thymol est bien uniquement transformé en sulfate de thymol et qu'il n'y aurait pas d'autres conjugués dans le plasma. Le fait que l'on observe uniquement le sulfate de thymol et pas son conjugué glucuroné dans le plasma peut être dû à un faible effet de premier passage hépatique.

Elimination

La concentration sanguine maximale, qui est de $93,11 \pm 24,5$ ng/mL, est atteinte au bout de $1,97 \pm 0,77$ heures (figure 15). Après la rapide absorption en vingt minutes, on observe une phase lente d'élimination qui débute 10 heures après l'administration et se termine jusqu'à 38 heures après. La demi-vie d'élimination du thymol a été estimée à 10,2 heures.

Dans **l'urine**, on ne retrouve pas non plus de thymol libre mais les deux conjugués ont pu être identifiés à savoir le sulfate de thymol et le glucuronide de thymol. Bien que les concentrations plasmatiques aient été détectables jusqu'à une moyenne de 38 heures, l'élimination rénale des conjugués thymol a été achevée dans les 24 heures. Cette divergence pourrait être due au fait que les reins, après 24 heures, éliminent de trop faible taux de conjugués pour que cela soit détectable ou bien qu'il y a une autre voie d'élimination (poumon, selles, sueurs, ...)

On note un pic d'élimination 6 heures après la prise du comprimé. La clairance rénale a été estimée à 0,271 L/h, elle indique une forte liaison protéique et/ou une réabsorption rénale. De plus, la clairance corporelle étant de 1,2 L/h, on suppose que l'élimination n'est pas uniquement rénale. Le volume de distribution a été estimé à 14,7 L, ce qui indique que le sulfate de thymol reste principalement dans le volume extracellulaire.

Le sulfate de thymol serait réabsorbé au niveau du tubule proximal après la filtration glomérulaire. Le clivage de ce conjugué est réalisé par des arylsulfatases situées dans la bordure en brosse du côté apical du tube contourné proximal, ce qui expliquerait la réabsorption du thymol.

Malgré l'absence du glucuronide de thymol dans le plasma, on note sa présence au niveau urinaire. Il serait obtenu par glucuronocouplage au niveau rénal *via* l'UDP-glucuronyltransferase suivie par la sécrétion dans le tubule proximal.

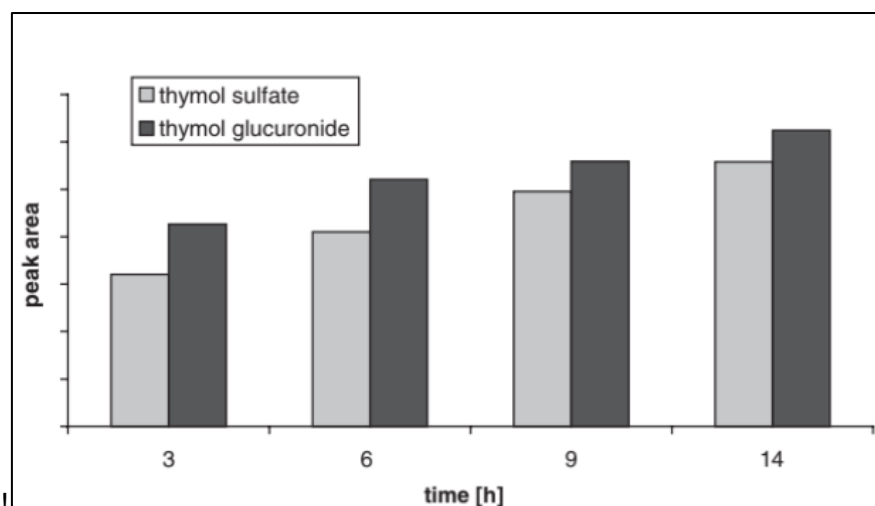


Figure 16. Excrétion rénale cumulée de sulfate de thymol et de glucuronide de thymol

Le taux constant de sulfate et de glucuronide de thymol sur les différents échantillons d'urines (figure 16) étudiés soutient l'hypothèse que le clivage rénal du sulfate du thymol serait suivi par une glucuronocouplage de celui-ci.

Les données disponibles jusqu'à présent indiquent que l'effet pharmacologique observé *in vivo* après une administration orale d'une préparation à base de thymol pourrait être dû au sulfate de thymol. Cependant, l'effet pharmacologique de ce conjugué n'a pas encore été étudié. Par ailleurs, la présence de sulfatases au niveau du site d'action pourrait indiquer que l'action n'est alors pas dû aux conjugués du thymol. En effet, l'activité de ces enzymes (sulfatases) a été trouvée dans les tissus pulmonaires humains. Ainsi, le thymol libre pourrait avoir un effet pharmacologique sur le système respiratoire.

Il y a peu de données sur la pharmacocinétique du thymol chez l'homme. La seule étude effectuée concerne celle décrite précédemment. Il n'y a donc aucune information disponible à ce jour sur la pharmacocinétique lors d'un usage cutané ou pulmonaire.

II. Propriétés thérapeutiques

Dans cette partie, nous citerons les études portant sur les huiles essentielles riches en thymol et parfois sur le thymol pur.

II.1. Action anti-infectieuse

En 1910, Martindale publie le classement des huiles essentielles en fonction de leur pouvoir antiseptique, par rapport à la fonction phénol, plaçant en tête l'origan, puis le thym, la cannelle et le romarin. Ce furent ensuite les propriétés bactéricides qui ont été expérimentées. En 1922, Coumont, Rochaix et Morel confirment que les huiles essentielles à thymol et à eugénol ont un pouvoir bactéricide supérieur à celui du phénol (1).

Le caractère majoritairement hydrophobe et légèrement hydrophile du thymol lui permet d'interagir efficacement avec les structures hydrophobes microbiennes, et ainsi d'inhiber ou de détruire ces mêmes microbes. La structure du thymol lui permet également de pénétrer dans des environnements plus hydrophiles tels que les biofilms bactériens ou fongiques.

La structure moléculaire a une importance dans le rôle anti-infectieux de la molécule : la présence d'oxygène, le caractère lipophile du squelette hydrocarboné et la propriété hydrophile des groupes fonctionnels permettent de classer les familles biochimiques en fonction de leur pouvoir anti-infectieux.

Phénol > Alcool > Aldéhydes > Cétones > Oxydes > Hydrocarbures > Esters

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont les phénols. Ils entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation.

II.1.1. Activité sur les bactéries

Une étude (7) évaluant l'activité antibactérienne du thymol permet de valider l'action antibactérienne de celui-ci. Les souches bactériennes testées ont été inoculées chacune dans des boîtes de Pétri séparées puis ont été ajoutés 15 µL des solutions tests dans un puits de 4mm de diamètre situé au centre de la boîte de Pétri.

Le thymol a été testé sur diverses bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Afin de situer son pouvoir anti-infectieux, il a été comparé au carvacrol et à l'eugénol qui sont tous les deux des monoterpènes à fonction phénol.

Tableau 2. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne des composés sélectionnés sur des bactéries à Gram négatif

Bactéries à Gram négatif	Carvacrol	Thymol	Eugénol
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	45,3	29,8	15,4
<i>Aeromonas hydrophila</i>	37,7	26,8	17,0
<i>Alcaligenes faecalis</i>	21,8	32,5	12,3
<i>Beneckea natriegens</i>	14,1	50,1	20,8
<i>Citrobacter freundii</i>	17,7	46,5	9,1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	18,5	30,5	9,9
<i>Erwinia carotovora</i>	15,5	32,0	10,0
<i>Escherichia coli</i>	29,2	34,3	13,3
<i>Flavobacterium suaveolens</i>	26,0	25,8	11,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23,6	40,0	10,9
<i>Moraxella sp.</i>	21,6	39,1	10,1
<i>Proteus vulgaris</i>	26,5	33,5	8,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26,0	13,4	15,5
<i>Salmonella pullorum</i>	27,1	31,5	12,9
<i>Serratia marcescens</i>	22,5	43,6	22,9
<i>Yersinia enterocolitica</i>	22,4	27,7	11,6

Le thymol montre une activité antibactérienne sur toutes les bactéries à Gram négatif testées (tableau 2).

Tableau 3. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne des composés sélectionnés sur des bactéries à Gram positif

Bactéries à Gram positif	Carvacrol	Thymol	Eugénol
<i>Bacillus subtilis</i>	39,5	29,2	21,8
<i>Brevibacterium linens</i>	21,7	42,0	12,7
<i>Brocothrix thermosphacta</i>	25,5	29,3	14,1
<i>Clostridium sporogenes</i>	20,3	Absence	9,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	21,2	26,3	10,0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	18,7	> 90,0	21,5
<i>Leuconostoc cremoris</i>	Absence	Absence	Absence
<i>Micrococcus luteus</i>	26,6	53,1	11,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	20,2	31,6	11,5

Concernant les bactéries à Gram positif, le thymol n'a aucune action sur le *Clostridium sporogenes*, cependant, les deux autres phénols montrent une activité faible sur celui-ci. Par ailleurs, *Leuconostoc cremoris* est la seule bactérie où les trois phénols ne présentent aucune activité.

De plus, le thymol présente une inhibition presque totale de la croissance bactérienne du *Lactobacillus plantarum* qui est utilisé en pharmacie comme probiotique.

Le thymol est présent dans certaines huiles essentielles qui font également l'objet d'études. Ces huiles essentielles contenant des composés phénoliques possèdent le plus large spectre : plus de 92 % des bactéries pathogènes y sont sensibles. Les 8 % restants représentent certaines résistances plus ou moins constantes.

Les huiles essentielles d'origan vulgaire et de thym à thymol, particulièrement riches en thymol, ont été testées sur les mêmes souches bactériennes.

Tableau 4. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne de certaines huiles essentielles sur des bactéries à Gram négatif

Bactéries à Gram négatif	Origan vulgaire	Thym à thymol
<i>Acinetobacter calcoacetica</i>	52,2	30,7
<i>Aeromonas hydrophila</i>	> 90,0	> 90,0
<i>Alcaligenes faecalis</i>	33,6	53,8
<i>Beneckea natriegens</i>	37,1	> 90,0
<i>Citrobacter freundii</i>	29,6	> 90,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	12,6	15,2
<i>Erwinia carotovora</i>	31,2	35,8
<i>Escherichia coli</i>	29,5	32,4
<i>Flavobacterium suaveolens</i>	9,4	> 90,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	19,0	31,8
<i>Moraxella sp.</i>	31,4	29,0
<i>Proteus vulgaris</i>	44,6	> 90,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 90,0	33,5
<i>Salmonella pullorum</i>	46,0	> 90,0
<i>Serratia marcescens</i>	18,9	39,1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	33,9	25,5

Tableau 5. Zone de croissance inhibitrice (mm) montrant l'activité antibactérienne de certaines huiles essentielles sur des bactéries à Gram positif

Bactéries à gram Positif	Origan vulgaire	Thym à thymol
<i>Bacillus subtilis</i>	20,5	23,4
<i>Brevibacterium linens</i>	> 90,0	> 90,0
<i>Brocothrix thermosphacta</i>	31,2	> 90,0
<i>Clostridium sporogenes</i>	> 90,0	> 90,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	17,9	41,8
<i>Lactobacillus plantarum</i>	23,8	26,3
<i>Leuconostoc cremoris</i>	> 90,0	> 90,0
<i>Micrococcus luteus</i>	21,5	> 90,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	17,6	> 90,0

Les huiles essentielles testées semblent avoir une action équivalente que ce soit contre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif sauf pour l'huile essentielle de thym à thymol qui montre une meilleure activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif.

Une différence est à noter pour les bactéries *Clostridium sporogenes* et *Leuconostoc cremoris*, le tableau 5 montre que l'huile essentielle de thym à thymol a une activité presque totale sur les germes alors que le thymol seul n'en induit pas (tableau 3).

Les résultats observés entre les inhibitions de croissance bactérienne induite par le thymol (tableau 2 et 3) et par les huiles essentielles phénolées (tableau 4 et 5) montrent qu'il y a une synergie entre les différents composés des huiles essentielles et que **le thymol présente bien une action antibactérienne qui lui est propre.**

Par ailleurs, on attribue au thymol une activité bactéricide notable, surtout sur les bactéries à Gram positif. Les bactéries à Gram négatif possèdent une structure bi-membranée et les bactéries à Gram positif ont une structure uni-membranée. La principale différence entre ces deux types de bactéries se situe au niveau de leur couche extérieure. Les bactéries à Gram négatif sont constituées d'une membrane externe alors que les bactéries à Gram positif sont formées d'une paroi cellulaire. Ainsi les bactéries à Gram négatif présentent une plus forte résistance à l'action des huiles essentielles du fait de leur structure plus complexe, la membrane extérieure étant difficilement franchissable.

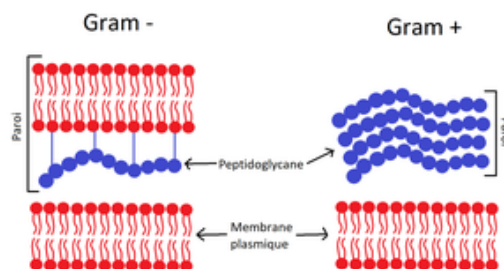


Figure 17. Comparaison entre les parois des bactéries à Gram positif et négatif

Nous allons étudier de plus près deux bactéries à Gram positif et deux bactéries à Gram négatif.

- **Salmonella typhimurium (bactérie à Gram négatif)**

Salmonella typhimurium est une bactérie à l'origine de gastro-entérite sévère nommée salmonellose. Il s'agit en général d'intoxication alimentaire car on peut retrouver la salmonelle dans les aliments crus ou insuffisamment cuits (volaille, œuf, fruits de mer...).

Le mécanisme d'action du thymol contre la souche *Salmonella var. typhimurium* a été étudié (8). Cette étude montre qu'en présence du thymol (750 mg/L), le nombre de colonies viables diminue fortement, allant jusqu'à une inhibition complète au bout de 120 minutes. Avec

la solution témoin, il n'y a aucune décroissance. Ceci montre bien le côté toxique du thymol face à *Salmonella*.

Pour expliquer cette toxicité, le mode d'action a été étudié en mesurant notamment l'efflux de potassium. Après l'ajout de thymol, on observe un efflux immédiat puis une perte constante de potassium. Dans la solution témoin, il n'y a pas de perte. Cela s'explique par le fait que le thymol abîmerait la membrane cellulaire de la bactérie.

La membrane cytoplasmique d'une bactérie est très délicate. Ainsi, n'importe quel composant capable d'interagir avec une membrane cytoplasmique peut abîmer sa structure anatomique, résultant par une fuite d'ions potassium.

Cependant, dans cette étude, la concentration de potassium extracellulaire, qui a été mesurée lors d'un traitement par thymol face à la solution témoin, est significativement haute. Cela suggère donc bien un fort effet toxique du thymol sur la membrane de *Salmonella*.

Aussi, le thymol possède une forte structure lipophile lui attribuant ainsi la capacité de migrer à travers le milieu extracellulaire aqueux et d'interagir avec les lipides membranaires. Le cytoplasme des bactéries ne contient pas seulement des ions potassium mais aussi des acides nucléiques, des ribosomes, des lipides, des protéines et acides aminés, qui sont aussi libérés après la rupture membranaire causée par le thymol.

De plus, la microscopie électronique prouve une fois de plus que le thymol induit une destruction de la membrane de la bactérie.

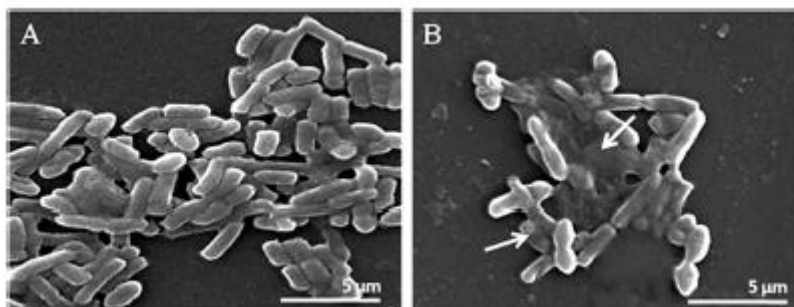


Figure 18. *Salmonella typhimurium* au microscope électronique sans traitement (A) et après traitement par 750 mg/L de thymol (B)

Pour étudier l'efficacité *in vivo* du thymol, des macrophages murins artificiels ont été infectés par des souches de *Salmonella*. La potentialité du thymol à pénétrer dans les membranes cellulaires lui permet d'entraîner la mort intracellulaire de *Salmonella*. De plus, les macrophages, ayant leur propre mécanisme de défense, génèrent un stress oxydatif. Certaines bactéries, notamment *Salmonella*, possèdent des mécanismes échappatoires contre ce stress oxydatif, en ayant notamment recours à des réplifications dans les vacuoles. Cela entraîne alors un stress oxydatif persistant occasionnant à terme une mort des macrophages eux-mêmes.

Dans cette étude, la capacité du thymol à protéger les macrophages de ce stress oxydatif a été évaluée en mesurant le niveau de monoxyde d'azote (NO) et de glutathion (GSH). Dans la solution traitée par le thymol, on observe une baisse de la production de NO et une réduction significative de la sécrétion de GSH par rapport à la solution témoin. Il est donc supposé que le thymol a, non seulement la capacité de tuer les bactéries intracellulaires, mais est aussi responsable de la protection des macrophages contre le stress oxydatif.

En conclusion, les données obtenues par cette étude suggèrent que la **rupture de l'intégrité membranaire** est le rôle principal du thymol contre *Salmonella*.

- **Staphylococcus aureus (bactérie à Gram positif)**

Staphylococcus aureus est très fréquent à l'état commensal. En effet, très rapidement après la naissance, il colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveaux nés. Il est également très présent au niveau des fosses nasales et des mains. Mais il peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées (furuncles, panaris, abcès, impétigo) et de certaines infections ORL. En milieu hospitalier, il est impliqué dans les infections nosocomiales, pouvant être graves.

Nous avons vu plus haut que d'après l'aromatogramme (tableau 3), on observe une zone de croissance inhibitrice de 31,6 mm de *Staphylococcus aureus* via l'action du thymol.

Le thymol et le carvacrol ont été testés sur cette bactérie, ainsi que trois huiles essentielles (9) :

- *Origanum vulgare* (carvacrol 98,3 %)
- *Thymus vulgaris* à carvacrol (*p*-cymène 10,6 % ; γ -terpinène 13,5 % ; carvacrol 73,7 %)
- *Thymus zygis* à thymol (*p*-cymène 9,7 % ; γ -terpinène 2,3 % ; linalol 1,4 % ; **thymol 84,9 %**)

Tableau 6. Activité antibactérienne sur *S. aureus*

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	2000	1000	800	400	200	100
<i>Origanum vulgare</i>	-	-	+	+	+	+
<i>Thymus vulgaris</i>	-	+	+	+	+	+
<i>Thymus zygis</i>	-	+	+	+	+	+
Thymol	-	-	-	-	-	+
Carvacrol	-	-	-	-	+	+

Légende : + pour croissance ; - pour absence)

Le thymol pur présente une meilleure efficacité que le carvacrol et les huiles essentielles. Sa concentration minimale inhibitrice est de 200 µg/mL. Les huiles essentielles de thym à thymol et de thym à carvacrol sont les moins efficaces avec une CMI à 2 000 mg/mL. L'huile essentielle d'Origan est légèrement plus active sur *Staphylococcus aureus* que les deux autres huiles essentielles.

Concernant le mode d'action (10) des phénols monoterpéniques sur *Staphylococcus aureus*, ils présentent une activité bactéricide agissant selon le processus suivant : la paroi cellulaire s'altère et s'opacifie, le cytoplasme s'éclaircit et subit une lyse partielle, et la membrane plasmique ainsi que le filament chromatinien s'individualisent.

- **Escherichia coli (bactérie à Gram négatif)**

Escherichia coli est également une bactérie commensale, elle est naturellement présente dans le tube digestif de l'homme. Si la majorité des souches de *E. coli* sont inoffensives, certaines ont acquis des facteurs de virulence qui les rendent pathogènes (infection urinaire, diarrhées...).

Nous avons vu plus haut que d'après l'aromatogramme, on observe une zone de croissance inhibitrice de 34,3 mm d'*Escherichia coli* (tableau 2) via l'action du thymol.

Le thymol et le carvacrol ont été testés sur cette bactérie, ainsi que les trois mêmes huiles essentielles qui ont été testées sur *S. aureus* (9) :

Tableau 7. Activité antibactérienne sur *Escherichia coli*

Concentration (µg/mL)	2000	1000	800	400	200	100
<i>Origanum vulgare</i>	-	-	+	+	+	+
<i>Thymus vulgaris</i>	-	-	+	+	+	+
<i>Thymus zygis</i>	-	-	+	+	+	+
Thymol	-	-	-	-	-	+
Carvacrol	-	-	-	-	+	+

Légende : + pour croissance ; - pour absence)

Concernant la souche *Escherichia coli*, le thymol est le plus efficace, sa CMI est de l'ordre de 200 mg/mL. Les huiles essentielles d'origan, de thym à thymol et à carvacrol se montrent moins efficaces (CMI = 1 000 mg/mL).

- ***Escherichia coli* (bactérie à Gram négatif) et *Bacillus subtilis* (bactérie à Gram positif)**

On retrouve *Bacillus subtilis* en général dans le sol, c'est une espèce ubiquitaire. Elle n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire.

Le mécanisme d'action du thymol et de l'huile essentielle d'Origan sur *E. coli* et *B. subtilis* a été étudié. (11). L'huile essentielle d'Origan utilisée pour cette étude est composée de carvacrol (49,1 %), p-cymène (17,6 %) et γ -terpinène (16,4 %).

Tableau 8. Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale létale (CML) du thymol et de l'huile essentielle d'Origan sur *E. coli* et *B. subtilis*

<i>E. coli</i>	CMI (%)	CML (%)
Huile essentielle d'Origan	0,033	0,05
Thymol	0,033	0,05

<i>B. subtilis</i>	CMI (%)	CML (%)
Huile essentielle d'Origan	0,025	0,033
Thymol	0,025	0,033

La concentration minimale inhibitrice (et létale) se trouve être identique entre l'huile essentielle d'origan compact et le thymol que ce soit pour *E. coli* et *B. subtilis* (tableau 8).

De plus, la lyse des bactéries a été mise en évidence par la libération de substances absorbant à 260 nm. Des observations au microscope électronique à balayage ont révélé que la paroi cellulaire et la membrane de la bactérie traitées par du **thymol (0,1 %)** ou l'huile essentielle d'origan (0,1 %) étaient endommagées de manière significative.

En d'autres termes, *E. coli* présente des dommages sous forme de trous dans l'enveloppe. Au contraire, *B. subtilis* présente un dommage sous forme de déformation cellulaire. Cette différence est compréhensible puisque les parois de *E. coli* (Gram négatif) et de *B. subtilis* (Gram positif) ne présentent pas la même structure (figure 19).



***Escherichia coli* : a (témoin) ; b (traité par du thymol) ; c (traité par l'HE d'origan compact)**



***Bacillus subtilis* : a (témoin) ; b (traité par du thymol) ; c (traité par l'HE d'origan compact)**

Figure 19. *E. coli* et *B. subtilis* au microscope électronique

En conclusion, tous ces résultats montrent que le thymol exerce un effet bactéricide majeur provoquant des dommages dans l'enveloppe bactérienne, qui joue un rôle fondamental dans la vie des bactéries. De plus, l'huile essentielle d'origan étudiée exerce également un effet bactéricide du fait de ses composants phénoliques. Elle est composée majoritairement de carvacrol mais selon l'étude, l'effet serait similaire au thymol dans la mesure où il s'agit de son isomère. Evidemment, il ne s'agit là que d'une hypothèse.

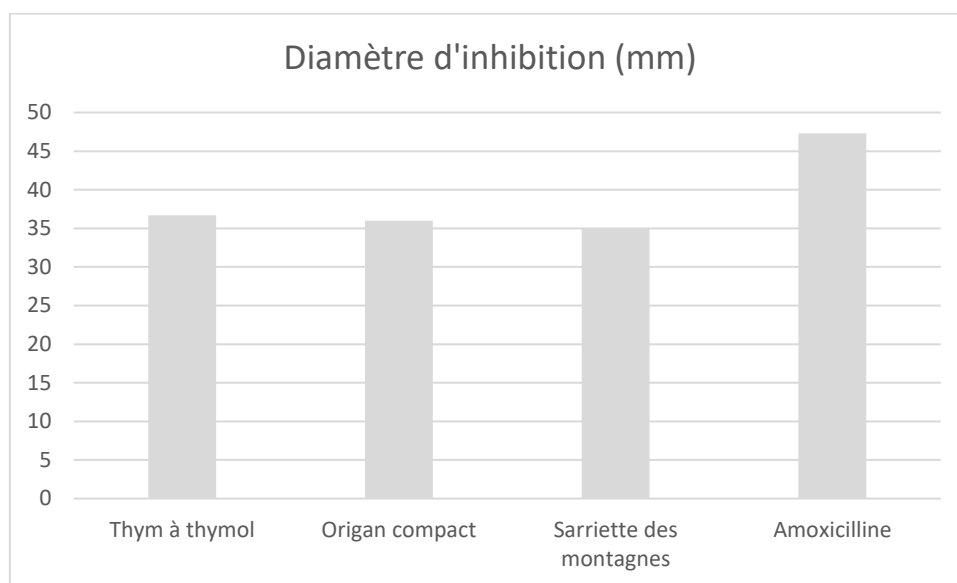
- ***Streptococcus pyogenes* (bactérie à Gram positif)**

Comme nous avons pu le voir précédemment, les effets du thymol et des huiles essentielles contenant du thymol sont relativement proches et à défaut de n'avoir pas suffisamment de sources étudiant uniquement le thymol, les effets de plusieurs huiles essentielles seront étudiés ici (12).

Le pouvoir antibactérien sur *S. pyogenes* a été étudié et les concentrations minimales bactéricides (CMB) et inhibitrices (CMI) déterminées. Les mêmes études ont été réalisées sur l'amoxicilline (traitement de référence de l'angine bactérienne). A savoir que le *S. pyogenes* ou streptocoque du groupe A est responsable de plusieurs maladies (angine à streptocoque, scarlatine, impétigo, érysipèle, septicémies...).

Dans la composition des huiles essentielles, la proportion de thymol est de **43,6 %** pour le thym à thymol, **16,2 %** pour l'origan compact et **6,8 %** pour la sarriette des montagnes.

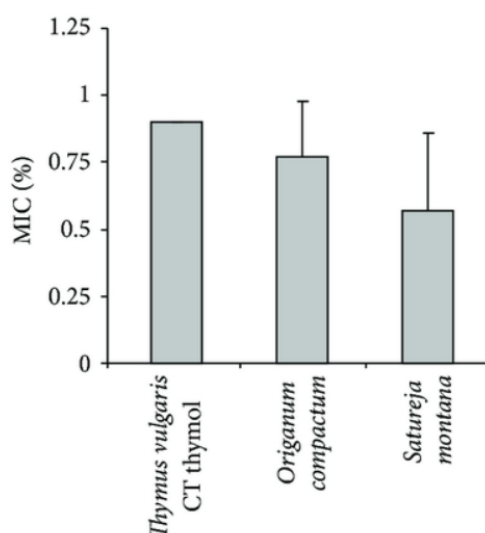
Tableau 9. Diamètre d'inhibition (mm) des huiles essentielles et de l'amoxicilline testés sur *S. pyogenes*



La souche *S. pyogenes* se montre la plus sensible au thym à thymol (36,7 mm) puis à l'origan compact (36 mm) et enfin à la sarriette des montagnes (35 mm). L'amoxicilline entraîne un diamètre d'inhibition de 47,3 mm (tableau 9).

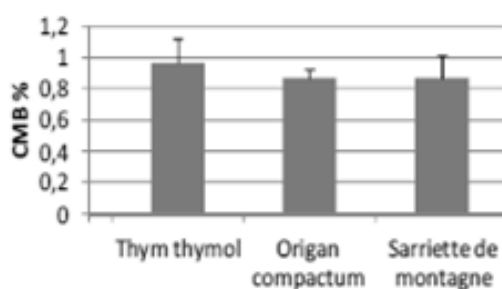
Les huiles essentielles très riches en monoterpènes à fonction phénol ont des CMI (concentrations minimales inhibitrices) très intéressantes, qui sont de l'ordre de 0,57 à 0,90 % v/v. (tableau 10)

Tableau 10. Concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles sur *S. pyogenes*



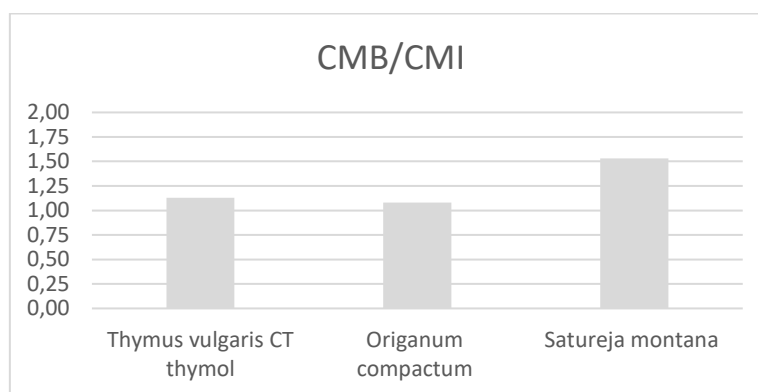
La CMB (concentration minimale bactéricide) moyenne est de 0,87 % pour l'origan compact et la sarriette des montagnes et de 0,97 % pour le thym à thymol (tableau 11).

Tableau 11. Concentrations minimales bactéricides des huiles essentielles sur *S. pyogenes*



Le rapport CMB/CMI détermine le caractère bactériostatique et bactéricide des huiles essentielles. S'il est inférieur à 4, elle est dite bactéricide et s'il est supérieur à 4, elle est bactériostatique. Le thym à thymol, l'origan compact et la sarriette des montagnes sont toutes trois des huiles essentielles bactéricides car ce rapport est compris entre 1,02 et 1,53.

Tableau 12. Rapport CMB/CMI des huiles essentielles sur *S. pyogenes*



Les huiles essentielles de thym à thymol, d'origan compact et de sarriette des montagnes contiennent toutes trois des monoterpènes à fonction phénol (thymol). On peut ainsi conclure que le **thymol** est très probablement à l'origine d'une action bactéricide sur *Streptococcus pyogenes*, sans oublier l'action synergique de tous les composants.

Le thymol semble donc avoir un effet bactéricide sur un bon nombre de bactéries, que ce soit des bactéries à Gram négatif ou positif. Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases :

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

II.1.2. Activité sur les levures et champignons

Concernant le mode d'action, pour les levures, les huiles essentielles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production des toxines chez les moisissures.

Les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure.

Plusieurs levures et champignons ont été étudiés de plus près.

- **Candida sp.**

Candida albicans est l'agent causal de la plupart des candidoses, cependant d'autres espèces de *Candida* émergent (*C. glabrata*, *C. parapsilos*, *C. krusei*) et sont une menace nosocomiale plus grave.

Les azolés ciblent l'enzyme de la biosynthèse de l'ergostérol. Cette classe est largement utilisée comme agents antifongiques, seulement elle est généralement fongistatique et non fongicide. Le médicament le plus couramment utilisé dans les candidoses est le fluconazole. Il agit en inhibant la biosynthèse de l'ergostérol d'origine fongique. Il est plus spécifique de la synthèse des stérols des champignons que de celle des stérols des mammifères. L'activité *in vivo* du fluconazole paraît nettement plus marquée que ne le laissent éventuellement prévoir les tests *in vitro*. Il est actif contre *Candida* et en particulier *albicans* et *Cryptococcus neoformans*. Cependant, *Candida krusei*, *Dermatophytes* (*microsporum*, *trichophyton*), *Aspergillus sp.* sont des espèces résistantes.

Les effets du thymol et du carvacrol ont été étudiés (13) sur plusieurs espèces de *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*) sélectionnés sur différents sites d'infections (cutanés, bronchoalvéolaire, oropharyngée, œsophagienne, vulvovaginale, urinaire, sanguine...). Soixante-dix-huit espèces de *Candida* prélevées étaient sensibles au fluconazole contre trente-trois espèces résistantes.

Tableau 13. Concentration minimale inhibitrice (80 %) du thymol et carvacrol sur les espèces de *Candida* sensibles et résistantes au fluconazole

Bioactive compound	Mean MIC (mg/L)	
	Fluconazole-sensitive (<i>n</i> =78)	Fluconazole-resistant (<i>n</i> =33)
Carvacrol	75–90	75–100
Thymol	100–125	100–150

Le thymol présente une concentration minimale inhibitrice à 80 % de l'ordre de 100 à 125 mg/L sur les espèces de *Candida* sensibles au fluconazole et de 100 à 150 mg/L sur les espèces de *Candida* résistantes au fluconazole, ce qui est sensiblement proche (tableau 13).

L'activité du **thymol (500 mg/L)**, du **carvacrol (200 mg/L)** et du **fluconazole (100 mg/L)** a été testée sur quatre espèces de *Candida* par méthode de diffusion sur disque gélosé.

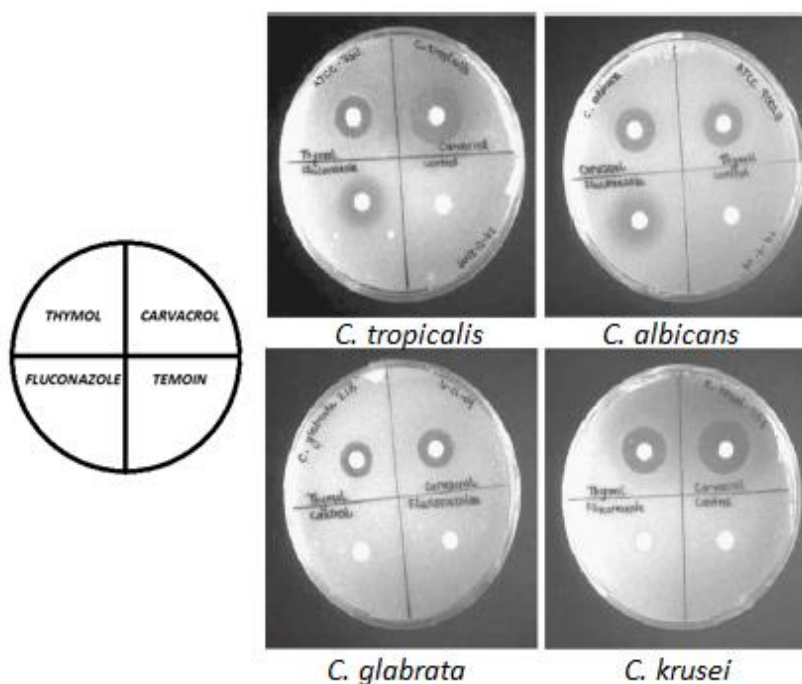


Figure 20. Résultat des propriétés antifongiques du carvacrol, thymol et fluconazole sur différentes espèces de *Candida*

Ces résultats montrent que *Candida albicans* et *Candida tropicalis* ont une sensibilité pour le fluconazole alors que *Candida glabrata* et *Candida krusei* sont des espèces résistantes au fluconazole. Le thymol et le carvacrol ont une activité antifongique sur ces quatre germes. Les halos formés par le carvacrol et le thymol sont nets, ce qui suggère une activité fongicide, contrairement au fluconazole qui présente des halos flous montrant à l'évidence une activité fongistatique.

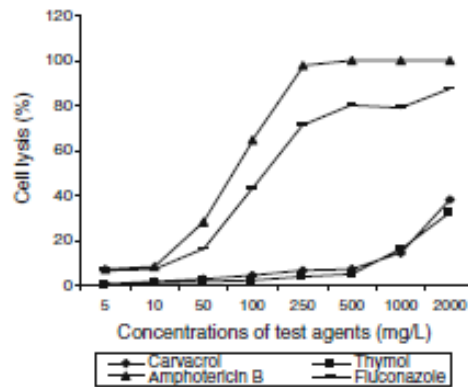


Figure 21. Hémolyse causée par différents agents

A 2 000 mg/L, le carvacrol et le thymol ont montré respectivement 38,4 et 32,4 % d'hémolyse, tandis que l'amphotéricine B et le fluconazole tendent vers 100 % d'hémolyse. A la concentration de 50 mg/L de carvacrol et **100 mg/L de thymol**, concentration active permettant une action antifongique, on observe seulement 1,9 et **2,1 %** d'hémolyse. Ils sont donc moins cytotoxiques que les antifongiques conventionnels.

D'autres études sur *Candida albicans* ont été réalisées (14) en analysant des huiles essentielles particulièrement riches en thymol : les feuilles d'*Ocimum gratissimum* récoltées à Nioma (OGF) et feuilles d'*Aframomum exscapum* récoltées à Alepé (AET). Leur composition est la suivante :

- AET : **thymol (47,35 %)** et γ -terpinène (16,69 %)
- OGF : **thymol (43,3 %)** et *p*-cymène (16,8 %)

La concentration minimale nécessaire pour inhiber 80 % de *Candida albicans* est de 0,4 μ L/mL pour AET et 0,8 μ L/mL pour OGF (tableau 14).

Ceci montre que AET, qui est plus riche en thymol, semble plus active que OGF sur *C. albicans*. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés dans la littérature. En effet, Giordani et al. (15) ont montré que l'HE de *Thymus vulgaris* à chémotype thymol (63,22 %) est la plus inhibitrice sur *Candida albicans* avec une CMI 80 % de 0,016 μ L/mL.

• *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus est un champignon du genre *Aspergillus*, responsable d'infections sévères chez les humains comme l'aspergillose responsable de pneumonie.

Les deux huiles essentielles citées précédemment ont également été testées (14) sur *A. fumigatus*. L'huile essentielle d'AET présente une CMI 80 % de 0,4 μ L/mL et celle d'OGF de 0,6 μ L/mL (tableau 14).

Tableau 14. Concentration minimale inhibitrice à 80% des huiles essentielles sur *C. albicans* et *A. fumigatus*.

CMI 80 %	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
AET	0,4 µL/mL	0,4 µL/mL
OGF	0,8 µL/mL	0,6 µL/mL

En conclusion, AET semble plus active que OGF sur *A. fumigatus*, sachant que AET présente une plus grande quantité de thymol que OGF.

Bien que ces études (14,15) s'intéressent aux huiles essentielles à thymol, elles permettent de montrer qu'une concentration plus importante en thymol est à l'origine d'une activité antifongique plus marquée.

- ***Aspergillus niger***

Ce champignon apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. Cette moisissure est un contaminant omniprésent qui est habituellement inoffensif. Mais dans des circonstances spéciales et rares, elle peut être toxique et pathogène car responsable de mycoses pulmonaires chez l'homme et les oiseaux.

Deux huiles essentielles de thym ont été étudiées (16) sur ce champignon : *Thymus eriocalyx* (dosé à **63,8 % de thymol**) et *Thymus x-porlock* (dosé à **31,7 % de thymol**). Différentes concentrations d'huiles essentielles de *T. eriocalyx* et de *T. x-porlock* testées ont montré une très forte propriété antifongique.

T. eriocalyx a inhibé *A. niger* à 125 ppm avec une zone d'inhibition de la croissance à 25 mm. *T. x-porlock* a inhibé *A. niger* à 250 ppm avec zone d'inhibition de la croissance à 8 mm.

Les concentrations fongicides des huiles *T. eriocalyx* et *T. x-porlock* ont été atteintes à 250 ppm et 500 ppm avec des zones d'inhibition de la croissance de 90 mm et 13 mm respectivement.

La microscopie électronique à transmission d'*A. niger* exposé aux huiles a montré de graves dommages à la paroi cellulaire, à la membrane cellulaire et aux organelles cellulaires. Le mycélium exposé aux huiles de thym a présenté des modifications morphologiques des hyphes, une rupture de la membrane plasmique et une destruction des mitochondries.

En conclusion, *T. eriocalyx*, qui est plus riche en thymol que *T. x-porlock*, montre une activité fongicide beaucoup plus marquée.

- **Saccharomyces cerevisiae**

Il s'agit d'une levure utilisée dans le domaine alimentaire et médical, couramment appelée la levure de bière.

Les actions de l'huile essentielle d'origan (riche en carvacrol) et de clou de girofle (riche en eugénol) ont été étudiées (17) sur cette levure. La lyse des cellules de levure a été mise en évidence par la libération de substances absorbant à 260 nm.

En outre, des analyses en microscopie électronique à balayage ont révélé que la surface des cellules traitées par les huiles d'origan et de girofle était très endommagée.



Figure 22. *S. cerevisiae* au microscope électronique (1-témoin, 2- traité par l'huile essentielle d'origan, 3- traité par l'huile essentielle de clou de girofle)

Même si l'article informe que l'origan a le carvacrol comme composant majoritaire, il est regrettable qu'il ne précise pas quelle espèce d'origan a été utilisée. Cette étude permet de montrer avant tout les effets antifongiques des monoterpènes à fonction phénol (ici le carvacrol) sur *S. cerevisiae*. On peut supposer que le mode d'action du thymol aurait été proche.

En conclusion, les différentes sources étudiées analysent avant tout l'action des huiles essentielles sur les différentes espèces de levures et de champignons. Cependant, via la concentration en thymol de chaque huile, l'action antifongique du thymol peut être soulignée.

II.1.3. Activité sur les virus

Les huiles essentielles ont la particularité de pouvoir pénétrer dans l'enveloppe des virus, contenant des lipides. Elles sont donc plus actives sur les virus enveloppés car ils sont plus fragiles que les virus nus. Les *Herpes simplex* virus sont des virus enveloppés.

- **Herpes simplex virus**

Herpes simplex virus 1 (HSV-1) est un virus hautement répandu qui cause des infections primaires telles que des herpès labiaux. Les agents antiviraux actuellement utilisés pour traiter ces infections sont l'aciclovir et ses dérivés, qui inhibent l'ADN polymérase du virus.

A cause de nombreuses résistances aux traitements et de leur toxicité, des études recherchent des nouveaux antiviraux dérivés des plantes.

Le thymol et le carvacrol ont ainsi été testés (18) contre l'activité de HSV-1. Les composés ont été incubés avec le virus à chaque stade de l'infection virale : phase d'absorption, de pénétration et de réplication. La présence des composés n'a pas réduit l'infectivité du virus. Cependant, le traitement du virus avec du thymol ou du carvacrol avant l'infection cellulaire a eu un effet significatif avec une diminution des niveaux de la plaque de 89 % et 80 % respectivement.

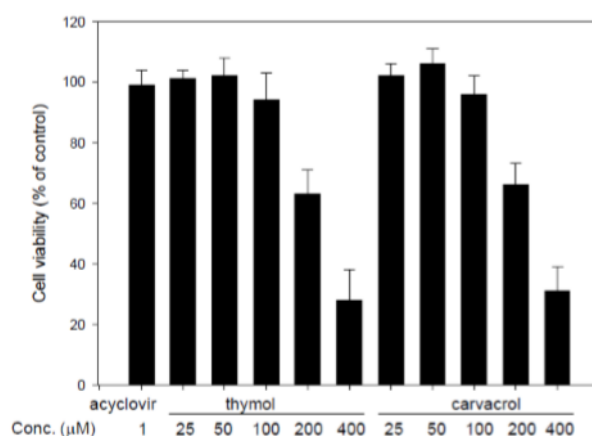


Figure 23. Effets du thymol et du carvacrol sur la viabilité cellulaire après incubation à 37°C pendant 4 jours à différentes concentrations.

La concentration létale de thymol et de carvacrol qui a réduit la viabilité de cellules de 50 % (CL₅₀) était de **300 µm** lorsque les virus ont été traités pendant 4 jours (figure 23).

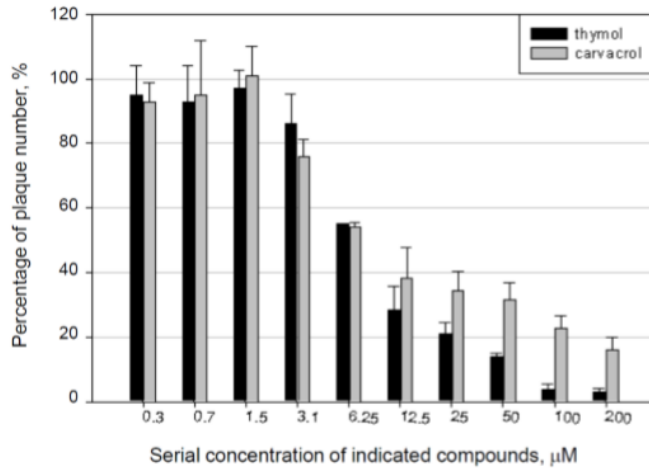


Figure 24. Activités antivirales de différentes concentrations de thymol et de carvacrol contre HSV-1

L'activité antivirale est clairement dépendante de la dose. La concentration de thymol et de carvacrol inhibant 50 % de plaques induits par le virus est d'environ 7 µM ($CI_{50} = 7 \mu M$) (figure 24).

De plus, le HSV-1 est inactivé à 50 % après 10 à 20 min d'exposition et inactivés à 90 % après 60 min (figure 25).

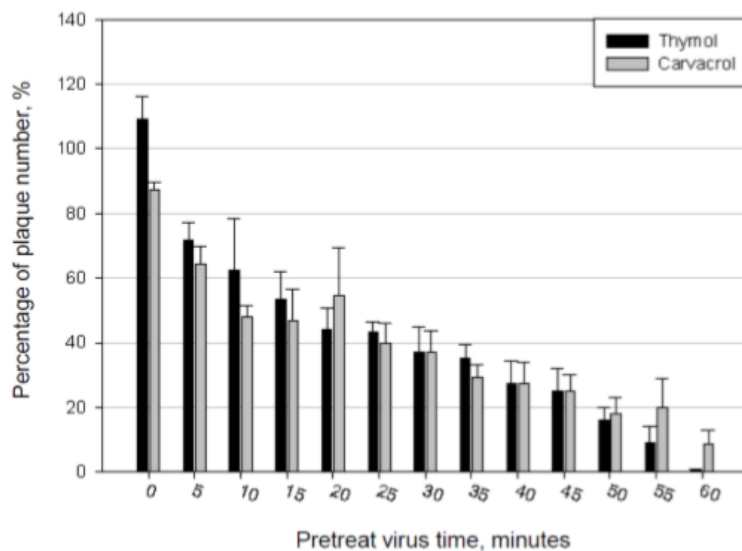


Figure 25. Activités dépendant du temps d'exposition au thymol et carvacrol contre HSV-1

L'effet inhibiteur est probablement dû à une interaction directe entre le composé et le virus. L'effet direct sur les particules de HSV-1 a également été évalué par microscopie électronique. Les résultats ont montré que plus de 85 % des particules non traitées de HSV-1 conservent une enveloppe intacte.

Inversement, une proportion importante de virions endommagés a été observée après un traitement avec 100 µM de carvacrol ou thymol. Environ 79% des enveloppes virales ont été perturbés après 1h de traitement par carvacrol et la proportion a augmenté à 93 % après 2 heures. Dans le groupe traité par le thymol, le taux de virus endommagés est de **95 % après 1 heure d'exposition** et 100 % après 2 heures.

Afin de comprendre les relations structure-activité, d'autres composés [annexe 1], naturels et héli-synthétiques, ont été testés (18) et toutes les expériences ont été réalisées avec le composé à tester à **100 µM**.

Le **thymol**, qui diminue le titre du virus de 92 %, présente l'activité antivirale la plus puissante. La suppression du groupement méthyle en para de l'isopropyle ne semble pas affecter l'activité inhibitrice. Il en est de même pour le groupement isopropyle. Cependant, la suppression du groupement hydroxyle réduit significativement l'activité antivirale. Enfin, l'effet anti-herpès diminue avec une polarité décroissante du groupe de substituants dans l'ordre – OH > –NH₂ > –CH₃ > –H.

L'action du thymol n'est donc pas à exclure sur les virus enveloppés à savoir la famille des herpesviridae (herpès, zona, varicelle, cytomégalovirus...).

Par ailleurs, concernant le virus de la grippe (*Influenza*) qui est enveloppé, peu d'études existent sur l'action du thymol. Or cela pourrait être intéressant dans la mesure où il n'y a pas de traitement thérapeutique efficace à proprement parler.

II.1.4. Activité sur les parasites

Il faut distinguer dans un premier temps les parasites externes (puces, tiques, acariens...), les parasites internes (ascaris, ténia, helminthe...) et les parasites cellulaires (plasmodium, leishmania, trypanosome...). Plusieurs études ont été menées sur différents parasites.

- **Tique**

Les tiques sont des acariens que l'on retrouve principalement en forêt au printemps et en automne sous nos latitudes. En Europe, elles représentent les plus importants vecteurs d'agents pathogènes (bactéries, virus et parasites) responsables de maladies infectieuses pour l'Homme et les animaux. Il existe un peu moins de 1 000 espèces de tiques dans le monde mais seules quelques-unes sont vectrices d'agents pathogènes entraînant des maladies plus ou moins graves. Ces maladies peuvent être d'origine bactérienne (maladie de Lyme, rickettsiose, bartonellose), virale (encéphalites à tiques, fièvres à tiques et hémorragiques) ou parasitaire (piroplasmose canine, babesiose bovine). En France, la principale maladie humaine liée aux tiques est la maladie de Lyme.

L'influence de l'huile essentielle de *Ocimum gratissimum* et de ses principaux constituants a été étudiée pour son activité acaricide contre les larves de *R. microplus*. Cette espèce de tique affecte la santé du bétail avec une perte de production dans les régions tropicales et subtropicales.

L'huile essentielle de Basilic (*Ocimum gratissimum*) peut produire différents chémotypes : eugénol, géraniol, thymol, et le cinnamate d'éthyle. Une activité acaricide (19) a été rapportée pour le basilic à thymol (avec une proportion de thymol comprise entre **33,4 et 47,9 %**), et à eugénol.

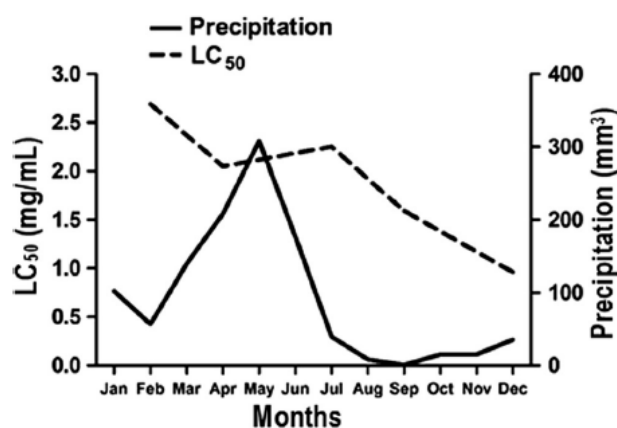


Figure 26. Concentration létale à 50 % (CL₅₀) des huiles de Basilic extraites à différents mois contre la larve de *R. microplus* et précipitation locale pendant la récolte

Concernant l'activité acaricide, les effets des huiles de basilic varient avec des CL₅₀ comprises entre 0,84 mg/mL et 1,58 mg/mL en fonction de la période de production de l'huile essentielle et donc de sa composition chimique.

Le thymol, le composant le plus volatil identifié dans les huiles de *O. gratissimum* (moyenne de **39,5 %**), présente une forte activité acaricide contre *R. microplus* et les souches résistantes, ainsi que contre *Rhipicephalus sanguineus*, *Ixodes ricinus*, *Amblyomma cajennense*. Le standard commercial du thymol testé contre les larves de *R. microplus* a présenté une CL₅₀ de 1,81 mg/mL.

- **Varroa destructor**

Varroa destructor (20) est une espèce d'acariens parasites de l'abeille adulte ainsi que des larves et des nymphes. Il est originaire de l'Asie du Sud-Est, où il vit aux dépens de l'abeille asiatique *Apis cerana* qui résiste à ses attaques, contrairement à l'abeille domestique européenne *Apis mellifera*. Ce parasite provoque des pertes économiques importantes en apiculture et il est une des causes de la diminution du nombre d'abeilles. Ayant colonisé

quasiment toutes les zones où *Apis mellifera* est présente, la varroose est désormais un problème d'ordre mondial.

La femelle varroa se nourrit par piqûre de l'hémolymphe des abeilles. La reine, les ouvrières et les mâles sont tous visés et cela à tous les stades de leur développement (larve, nymphe, abeilles adultes). La durée de vie du parasite est adaptée au cycle de vie de l'abeille. On a remarqué qu'une colonie qui hiverne avec plus de 50 varroas a peu de chances de survivre l'année suivante.

Se nourrissant de l'hémolymphe, le varroa prive l'abeille de nombreuses cellules sanguines et de protéines. Entre autres, la gelée royale produite par les nourrices est alors de moins bonne qualité ce qui nuit au bon développement du couvain. L'effet le plus dévastateur est la transmission des maladies lors des piqûres ou ultérieurement car la plaie reste ouverte et devient un foyer infectieux. Ainsi, la varroose est souvent associée au développement de malformations ou d'autres maladies telles que le couvain sacciforme, les loques, la paralysie aiguë etc.

Comme traitements chimiques, deux produits sont disponibles : l'Apivar® à base d'amitrazé et le Périzin®, à base de coumaphos (organophosphoré). Cette dernière molécule présente l'inconvénient de se retrouver dans les cires et porterait préjudice au développement des larves d'abeilles.

Des traitements « biologiques » peuvent être utilisés, ils ont une efficacité plus irrégulière et plus faible. Cependant, leurs résidus présentent moins de nocivité pour la santé et permettent d'élargir la palette des traitements et réduire l'apparition de résistances du varroa. Il s'agit entre autres de l'acide formique (présent naturellement dans le miel) et du thymol.

Son efficacité avoisine les 80 %. Plusieurs médicaments utilisent le thymol dont Apiguard®, Thymovar® et Apilife-Var®. Les trois ont une autorisation de mise sur le marché en France. On conseille un premier traitement au thymol dès la récolte de juillet puis 3 mois de traitement avec des lanières et enfin une application d'acide oxalique hors couvain en décembre ou début janvier. En l'absence de produits commerciaux, le thymol peut être dissout dans de l'alcool ménager, imbibé sur des bouts de carton et laisser s'évaporer au-dessus des cadres des ruches. La température extérieure doit être supérieure à 20°C. Tout le rucher doit être traité en même temps car les vapeurs incommode les abeilles qui peuvent changer de ruches.

Les traitements à l'acide formique et au thymol sont plutôt destinés aux traitements après la récolte lorsque la température extérieure est encore assez élevée. Ils sont souvent complétés par un traitement à l'acide oxalique.

- **Haemonchus contortus**

Il s'agit d'un nématode relativement pathogène pour les ruminants. L'effet du thymol et de son acétate a été testé (21) sur différents stades de développement du ver.

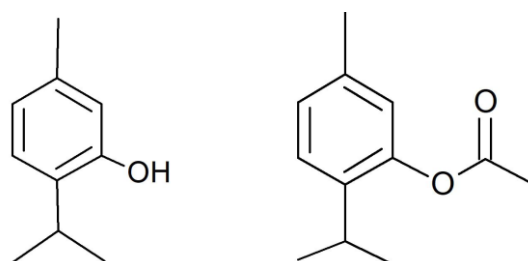


Figure 27. Structure du thymol (gauche) et acétate de thymol (droite)

Dans le test d'éclosion des œufs, le thymol (**0,5 mg/mL**) et l'acétate de thymol (4 mg/mL) ont inhibé l'éclosion des larves de 98 % et de 67,1 %, respectivement. À une concentration de **4 mg/mL** pour le thymol et son acétate, 100 % du développement larvaire a été inhibé. Le thymol et son acétate, à la dose chacun de **800 µg /mL**, ont réduit la motilité des vers adultes de 100 % et de 83,4 %, respectivement.

Le thymol a provoqué des modifications cuticulaires dans les téguments du ver adulte : les parasites exposés au thymol présentent des cuticules ridées et la présence de bulles sortant du tégument.

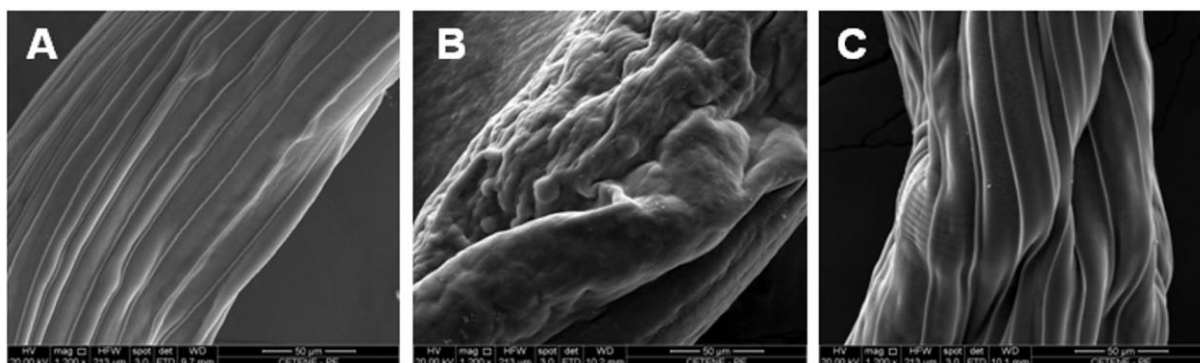


Figure 28. Image d'une cuticule d'une femelle adulte de *H. contortus* au microscope électronique (A- témoin, B- après incubation au thymol, C- après incubation avec l'acétate de thymol)

Dans l'essai de toxicité aiguë, les DL₅₀ de thymol et de l'acétate sont respectivement de 1 351 mg/kg et de 4 144 mg/kg. Lors de tests *in vitro*, le thymol a présenté une meilleure activité anthelminthique que l'acétate de thymol. Cependant, sur des tests *in vivo* sur des moutons, l'efficacité de l'acétate a été tout aussi convenable que le thymol.

Pour conclure, le thymol a montré une efficacité supérieure à celle de l'acétate, probablement parce que le composé acétylé n'a pas pu pénétrer dans les trois couches (vitelline externe, chitine moyenne et couche interne des lipides) qui forment la coquille d'œuf de *H. contortus*. L'effet ovicide du thymol est donc probablement lié à la présence du groupement hydroxyle dans sa structure chimique.

- **Leishmaniose**

Le parasite responsable de la leishmaniose est un protozoaire flagellé qui présente au cours de son cycle deux stades évolutifs distincts :

- Le stade amastigote, sans flagelle extériorisé, est intramacrophagique et retrouvé chez les hôtes vertébrés dont l'homme
- Le stade promastigote, libre et mobile grâce à son flagelle, est retrouvé dans l'intestin du phlébotome

Les phlébotomes sont des moucheron hémaphages (1,5 mm à 4 mm) qui piquent surtout le soir et la nuit par temps calme. Seule la femelle, hémaphage, assure la transmission de la leishmaniose.

Les principales espèces responsables de la leishmaniose sont *Leishmania infantum*, *L. chagasi*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis*, *L. donovani*...

Les amastigotes du vertébré sont ingérés par le phlébotome femelle avec son repas sanguin ; ils se multiplient sous forme de promastigotes procycliques dans l'intestin moyen, évoluent en promastigotes métacycliques infectieux obstruant la cavité buccale de l'insecte. Ces derniers sont régurgités lors du repas sanguin suivant sur un hôte favorable. Ils sont phagocytés par les macrophages du vertébré, évoluent en amastigotes. Ceux-ci résistent à l'environnement hostile du phagolysosome et s'y multiplient.

Cliniquement, la leishmaniose est à l'origine de formes viscérales, de formes cutanées localisées, cutanées diffuses et des formes cutanéomuqueuses. En fonction de l'espèce parasitaire, l'expression clinique va de la leishmaniose cutanée spontanément résolutive en quelques mois à la leishmaniose viscérale potentiellement fatale.

En France, l'amphotéricine B liposomale et les antimoniés pentavalents constituent le traitement classique des formes viscérales. La toxicité des antimoniés est importante et de nombreux cas de résistance sont signalés en Inde. Le traitement de seconde intention fait appel à la miltéfosine. La recherche de traitement présentant moins de toxicité et de résistance est donc utile.

Leishmania amazonensis

Le thymol et l'huile essentielle de *Lippia sidoides* ont été étudiés (22) dans le but de trouver un traitement alternatif à la leishmaniose. 15 composants ont ainsi été identifiés dans l'huile essentielle et son composant majoritaire est le thymol (**78,37 %**).

Des **promastigotes** de *Leishmania amazonensis* ont été incubés avec l'huile essentielle de *Lippia sidoides* et avec le thymol seul. Les deux inhibent efficacement la croissance du parasite. La concentration inhibitrice de 50 % du parasite en 48 heures est de 44,38 µg/ml pour l'huile essentielle et de 19,47 µg/ml pour le thymol seul (figure 29).

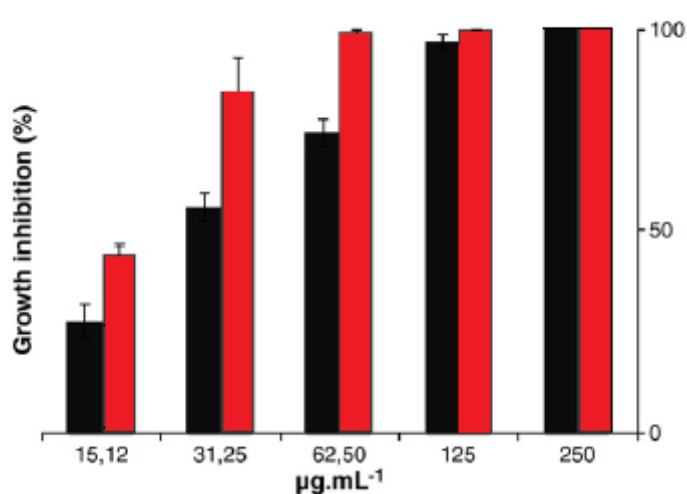


Figure 29. Effets de l'huile essentielle *Lippia sidoides* et du **thymol** sur le promastigote du Leishmania

Bien que nos résultats aient montré que l'huile essentielle a été moins efficace contre les promastigotes par rapport au thymol, ce dernier a eu un effet cytotoxique sur les macrophages péritonéaux avec une concentration cytotoxique médiane de 37,4 µg/ml (tableau 15).

Tableau 15. Effets cytotoxiques de l'huile essentielle *Lippia sidoides* et du thymol

Compounds	Macrophage	Promastigote	Amastigote		
	CC ₅₀ µg/mL	IC ₅₀ µg/mL	IC ₅₀ µg/mL	SI _{pro}	SI _{ama}
LSEO	217.28 ± 30.10	44.38 ± 2.52	34.4 ± 1.9	4.91 ^a	6.32 ^b
Thymol	37.41 ± 2.72	22.63 ± 2.27	ND	1.92 ^a	ND

ND, not done.

^a SI_{pro} (selectivity index) = CC₅₀ macrophages/IC₅₀ promastigote forms.

^b SI_{ama} (selectivity index) = CC₅₀ macrophages/IC₅₀ amastigote forms.

L'indice de sélectivité pour les promastigotes a montré que l'huile essentielle était 4,91 fois moins toxique pour les macrophages que pour les parasites. D'autre part, le thymol a

présenté un indice de sélectivité de 1,92. La faible toxicité de l'huile essentielle sur les macrophages par rapport au thymol pourrait être due à l'effet protecteur d'autres constituants (tableau 15).

En raison de la faible sélectivité du thymol, seule l'huile essentielle de *Lippia sidoides* a été testée sur les **amastigotes** intracellulaires.

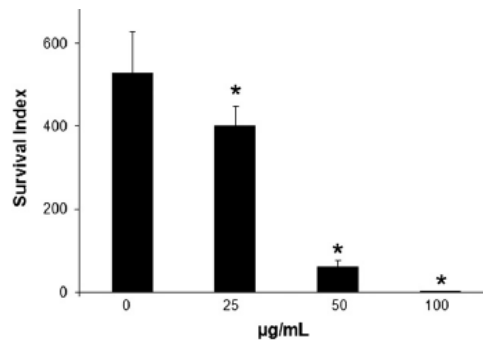


Figure 30. Effet de l'huile essentielle *Lippia sidoides* à différents dosages sur les formes intracellulaire d'amastigotes

Le traitement des amastigotes intracellulaires avec toutes les concentrations de l'huile essentielle testées a causé une diminution significative de l'indice de survie avec des taux d'inhibition de 24,4 %, 88,3 % et 99,9 % pour 25, 50 et 100 µg/ml de l'huile essentielle respectivement (figure 30). On note également que les macrophages n'ont pas été affectés par ce traitement.

En conclusion, l'huile essentielle et le thymol ont montré une activité significative contre les formes promastigotes de *L. amazonensis*. Cependant, le thymol a montré une toxicité vis-à-vis des macrophages péritonéaux et une faible sélectivité vis-à-vis des promastigotes. Des altérations morphologiques significatives telles que l'accumulation de grosses gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme, une membrane perturbée et des cellules ridées étaient généralement observées chez les parasites traités. L'activité de l'huile essentielle de *Lippia sidoides* contre les formes promastigotes et amastigotes de *L. amazonensis*, ainsi que sa faible toxicité pour les cellules de mammifère, font de cette huile un agent prometteur pour le traitement de la leishmaniose cutanée.

Leishmania infantum chagasi

Dans le nord-est du Brésil, la leishmaniose viscérale est endémique avec des cas mortels chez l'homme et le chien.

Le composé thymol a été choisi (23) comme composé de départ pour synthétiser des dérivés **acétylés** et **benzoylés** et pour tester leur activité antileishmanienne contre *L. i. chagasi*. Deux dérivés ont ainsi été synthétisés : acétyl-thymol et benzoyl-thymol (figure 31).

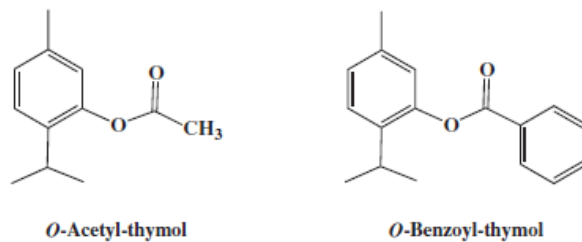


Figure 31. Structure chimique des dérivés du thymol

Le benzoyl-thymol est le meilleur inhibiteur de la croissance du promastigote avec une concentration efficace médiane (CE₅₀) à 8,67 ± 0,28 µg/ml. Le dérivé synthétique acétylé du thymol montre une meilleure activité contre les promastigotes que le thymol (figure 32).

Compounds	Promastigote EC ₅₀ (µg/mL)	Amastigote EC ₅₀ (µg/mL)
Acetyl-Thymol	9.07 ± 0.06 ^{Ae}	10.95 ± 3.00 ^{Ab}
Benzoyl-Thymol	8.67 ± 0.28 ^{Af}	15.09 ± 3.65 ^{Bab}
Thymol	12.85 ± 1.61 ^{Ac}	23.93 ± 6.29 ^{Ba}
Amphotericin B	Nd	20.44 ± 0.98
Pentamidine	5.30 ± 0.81	Nd

Figure 32. Activité anti-leishmanienne des dérivés du thymol et des témoins

Selon l'étude précédente (22), il a été démontré une CE₅₀ de 44,3 µg/mL pour l'huile essentielle de *Lippia* et une CE₅₀ de 19,4 µg/mL pour le thymol contre les promastigotes de *Leishmania amazonensis*. Ainsi, l'acétylation et la benzoylation du thymol peuvent améliorer l'inhibition de la croissance et diminuer la toxicité. L'activité est similaire vis-à-vis des amastigotes et l'acétyl-thymol est plus actif que le thymol et que l'amphotéricine B.

La toxicité des dérivés a été étudiée sur des macrophages murins. Ceci a révélé que 100 µg/mL d'acétyl-thymol n'est pas toxique contrairement à 100 µg/mL de benzoyl-thymol qui a diminué la survie des macrophages à 63,6%. Les deux dérivés ont une toxicité inférieure à celle du thymol. C'est une excellente démonstration que l'acétylation et les processus de benzoylation peuvent diminuer la toxicité des produits chimiques.

Dans la présente étude, a été évaluée l'activité des dérivés du thymol *in vivo* chez des souris infectées par *L. i. chagasi*, principale cause de la leishmaniose viscérale en Amérique latine. Des souris mâles ont été infectées par 10⁷ promastigotes et le traitement a été démarré 30 jours après l'infection. Les dérivés de thymol ont été administrés à raison de 100 mg/kg une fois par jour pendant 30 jours supplémentaires. Les groupes témoins de souris ont reçu soit du Glucantime[®], soit de l'eau dans le même volume que les médicaments. Des échantillons de tissus de la rate et du foie ont été prélevés pour des analyses histopathologiques et immunohistochimiques.

Des colorations immunohistochimiques ont été réalisées pour détecter qualitativement la présence ou l'absence de formes de *Leishmania* amastigote. Toutes les taches ont été comparées à des animaux témoins n'ayant reçu aucun médicament ni Glucantime®, le traitement standard de la leishmaniose viscérale.

Les données ont révélé que les amastigotes n'étaient visibles que dans les rates d'animaux traités avec Glucantime® (présence de quelques amastigotes seulement), de l'eau et acétyl-thymol (quantité régulière de parasites réparties dans la tache). Cependant, les parasites n'ont pas pu être visualisés dans les rates de souris traitées au benzoyl-thymol. Les amastigotes ont été visualisés dans le foie de souris n'ayant pas reçu de traitement médicamenteux (animaux traités à l'eau), mais pas dans le foie de souris traitées avec chacun des autres composés.

L'immunohistochimie démontre ainsi la présence de *Leishmania* amastigote uniquement dans la rate mais pas dans le foie de souris traitées à l'acétyl-thymol.

Les données montrent que les dérivés sont actifs contre le parasite *in vitro* et démontrent leur capacité à réduire les charges parasitaires dans le foie et la rate des souris. Les modifications apportées sur le thymol pour donner des dérivés benzoylés ou acétylés sont probablement responsables de la diminution de la toxicité et de l'augmentation des activités antileishmaniales de ces composés. Ceux-ci peuvent constituer des composés utiles pour générer de nouveaux agents pour le traitement de la leishmaniose.

• **Trypanosomoses**

La trypanosomose est provoquée par un parasite nommé trypanosome ; ce sont des protozoaires flagellés sanguicoles exoérythrocytaires. Ils se trouvent dans le sang, où ils se déplacent entre les différentes cellules du sang comme les globules rouges et les globules blancs et dans d'autres liquides biologiques. Il n'y a que 2 espèces pathogènes pour l'homme :

- *Trypanosoma cruzi*, responsable de la trypanosomiase humaine américaine (ou maladie de Chagas) qui n'existe qu'en Amérique latine et dont le vecteur est une punaise (la réduve)
- *Trypanosoma brucei*, strictement localisé en Afrique noire dans les régions où vivent les mouches tsétsé. Ce parasite est à l'origine entre autres de la maladie du sommeil.

Le thymol et les huiles essentielles d'Origan vulgaire et de Thym vulgaire ont été étudiés (24) sur la croissance et les diverses formes de *Trypanosoma cruzi*.

Trypanosoma cruzi existe sous deux formes chez l'homme :

- Dans le sang : forme extracellulaire, mobile (trypomastigote, 15 µm à 20 µm)
- Dans les cellules : forme immobile, sans flagelle (amastigote, 2 µm à 3 µm).

Trypanosoma cruzi est éliminé dans les déjections du rédve sous forme trypomastigote. Il pénètre de manière active au travers des muqueuses saines (le plus souvent conjonctivale ou buccale) ou de la peau (lésion de grattage, point de piqûre). Il se multiplie alors *in situ* dans les monocytes-macrophages sous forme amastigote. Il en ressort sous forme trypomastigote pour gagner, par voie sanguine, la plupart des organes. Le vecteur s'infecte en absorbant du sang contenant des trypomastigotes.

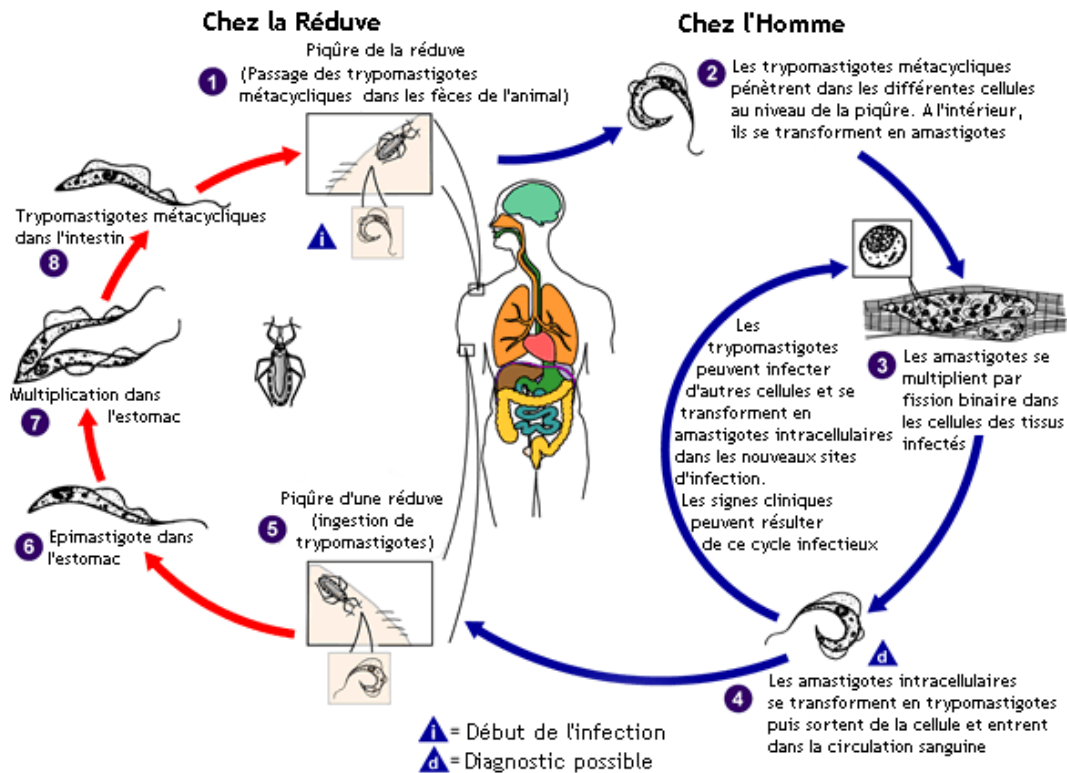


Figure 33. Cycle de vie du Trypanosome

Les épimastigotes de culture et les trypomastigotes du sang ont été incubés pendant 24 h avec différentes concentrations d'huiles essentielles d'origan ou de thym et avec du thymol (constituant principal du thym), et la concentration inhibitrice médiane (CI_{50}) a été déterminée par comptage cellulaire.

L'huile essentielle d'**origan** inhibe la croissance des épimastigotes ($CI_{50}/24h = 175 \mu g/mL$) et induit également une lyse des trypomastigotes ($CI_{50}/24h = 115 \mu g/mL$). L'huile essentielle de **thym** présente des valeurs de $CI_{50}/24h$ de $77 \mu g/mL$ pour les épimastigotes et de $38 \mu g/mL$ pour les trypomastigotes. Tandis que le traitement au **thymol** donne une $CI_{50}/24h$ de $62 \mu g/mL$ pour les épimastigotes et $53 \mu g/mL$ pour les trypomastigotes.

Sur les épimastigotes, l'efficacité se résume ainsi : thymol > HE thym > HE origan. Sur les trypomastigotes, l'efficacité est la suivante : HE thym > thymol > HE origan.

La microscopie électronique à balayage des cellules traitées montre peu d'altérations morphologiques au niveau de la membrane plasmique. L'observation par microscopie électronique à transmission montre un gonflement cytoplasmique avec des altérations morphologiques occasionnelles du plasma et de la membrane flagellaire. Nos données indiquent que les huiles essentielles d'origan et de thym sont efficaces contre *T. cruzi*, avec une activité plus élevée du thym, et que le thymol pourrait être le principal composant responsable de l'activité trypanocide.

Ainsi, c'est par l'étude de divers parasites, qu'ils soient cellulaires, externes ou internes, que l'action antiparasitaire du thymol peut être confirmée.

II.2. Autres propriétés

Les monoterpènes à fonction phénol et notamment le thymol sont réputés pour leur action anti-infectieuse, qui, comme nous venons de le voir, est loin d'être négligeable. Il s'agit d'ailleurs de leurs propriétés thérapeutiques principales. Quelques propriétés secondaires peuvent tout de même être notifiées.

Dans plusieurs sources, on parlera surtout d'un rôle antioxydant des phénols et parfois d'une action antispasmodique.

II.2.1. Activité antioxydante

Le stress oxydant provoque de nombreux dégâts dans les tissus, les organes, et peut même altérer l'ADN. Il est impliqué dans de nombreuses maladies comme la cataracte, l'arthrite, les maladies cardio-vasculaires ou les cancers. Au niveau cutané, les radicaux libres sont considérés comme une des causes du vieillissement tissulaire, en particulier en ce qui concerne l'apparition des rides de la peau. Ils sont formés par une exposition aux rayons UV, ou par les bactéries symbiotiques qui vivent naturellement à la surface de l'épiderme. L'introduction d'anti-radicaux libres (ou antioxydants) dans de nombreuses crèmes a pour objectif de combattre les effets délétères des radicaux libres.

L'organisme peut lutter contre les radicaux libres grâce à des systèmes de défense, constitués par des antioxydants issus de l'alimentation (caroténoïdes, vitamines C et E) ou grâce à des enzymes capables de les neutraliser (la glutathione peroxydase ou l'enzyme antioxydant responsive element (ARE)).

Certaines huiles essentielles sont également d'excellents antioxydants. Elles agissent à deux niveaux :

- Action antioxydante directe : par une neutralisation directe des radicaux libres déjà formés (eugénol, menthol, carvacrol, thymol, 1,8 cinéole, salicylate de méthyle, γ -terpinène)

- Action antioxydante indirecte : par une activation des mécanismes cellulaires de neutralisation des radicaux libres (cinnamaldéhyde, citral, safranal).

Deux études rapportent les propriétés antioxydantes du thymol.

Le thymol et le carvacrol (25) ont diminué la peroxydation des liposomes phospholipidiques en présence de fer et d'ascorbate. Un test à l'oxydation a montré qu'ils n'ont pas accéléré les dommages de l'ADN. Cela suggère que le thymol et le carvacrol possèdent des propriétés antioxydantes utiles et pourraient devenir importants dans la recherche de substituts « naturels » aux additifs alimentaires « synthétiques » antioxydants.

L'auto-oxydation (26) de triacylglycérols purifiés de lard (TGL) et d'huile de tournesol (TGSO) contenant 0,02, 0,05, 0,10 et 0,20 % de thymol et de carvacrol a été étudiée à température ambiante. Les résultats obtenus ont montré que le thymol présentait l'efficacité et l'activité antioxydantes la plus élevée au cours de l'oxydation du TGSO.

En général, le thymol est un antioxydant plus efficace et plus actif que le carvacrol. Les deux antioxydants diffèrent par leur mécanisme d'action qui dépend du caractère du milieu lipidique. Le thymol est un meilleur antioxydant dans le TGSO que dans le TGL, alors que l'activité du carvacrol dans les deux systèmes lipidiques ne diminue pas significativement.

Cependant, on ne peut pas réduire l'action antioxydante d'une huile essentielle à l'un de ses composés, même s'il est majoritaire. Il existe là encore, une activité synergique des différents composés contenus dans une HE (27).

Tomaino et son équipe, dans leur étude de 2005 (28) ont comparé le potentiel antioxydant de plusieurs huiles essentielles en étudiant leur capacité à protéger l' α -tocophérol contenu dans l'huile d'olive vierge contre la dégradation par oxydation thermique. Ils ont établi le classement suivant : clou de girofle > thym à thymol > cannelle > basilic > origan compact > noix de muscade.

L'utilisation des huiles essentielles à phénol et donc du thymol est ainsi particulièrement indiquée lorsque l'on cherche à neutraliser un excès de radicaux libres, et à limiter leurs effets délétères.

II.2.2. Activité antispasmodique

Les effets du thymol sur l'activité contractile spontanée ont été mis en évidence (29) lors d'expériences *in vitro* avec les muscles lisses de l'estomac et de la veine des cobayes. Le thymol s'est avéré avoir un effet agoniste sur les récepteurs α_1 , α_2 et β -adrénergique. On enregistre un effet spasmolytique à des doses supérieures à 10^{-6} M.

Le thymol à une dose de 10^{-4} M inhibe à 100 % l'activité contractile des muscles lisses. On suppose que le thymol exerce un effet analgésique par son action sur les récepteurs adrénergiques α_2 des cellules nerveuses.

L'activité spasmolytique (30) du thym est le plus souvent attribuée au thymol et au carvacrol de l'huile essentielle. En fait, les phénols s'opposent aux contractions provoquées sur l'iléon et la trachée du Cobaye par l'histamine, l'acétylcholine ou autres. Cependant des préparations pratiquement dépourvues de thymol conservent une grande partie de l'activité antispasmodique *in vitro*. Lemli et van den Broucke ont montré que l'activité spasmolytique de ces préparations est aussi liée à la présence des polyméthoxyflavones.

II.2.3. Activité anti-inflammatoire

Une action anti-inflammatoire dûe au thymol a aussi été retrouvée.

L'huile essentielle de *Lippia gracilis* a une activité antimicrobienne et est utilisée en externe pour traiter les maladies cutanées, les brûlures, les plaies et les ulcères. Il a été démontré que l'huile essentielle de feuilles de *Lippia gracilis* possède des actions antinociceptives et anti-inflammatoires et que son composant majeur identifié était le thymol. Une étude (31) a souhaité évaluer les activités anti-inflammatoires et cicatrisantes du thymol chez les rongeurs.

Elle a révélé que le thymol améliorerait considérablement les réponses inflammatoires et possédait un potentiel de cicatrisation des plaies chez plusieurs modèles de rongeurs. Le traitement des rats au thymol a entraîné une réduction significative de l'œdème des pattes. Ces données suggèrent que le thymol peut inhiber l'augmentation de la perméabilité microvasculaire (œdème) et l'afflux de leucocytes.

Afin d'évaluer le potentiel de cicatrisation des plaies, le thymol (**10 %**) a été introduit dans des films de pansement à base de collagène et un test de cicatrisation biologique des plaies a été réalisé.

La contraction de la plaie est une étape complexe de la cicatrisation impliquant des interactions extracellulaires et cellulaires, entraînant la fermeture d'une plaie ouverte. Ce phénomène biologique est un événement lié aux fibroblastes extrêmement sensible aux fluctuations de la matrice cellulaire et extracellulaire dépendante des fibroblastes. Étant donné que les fibroblastes sont responsables à la fois de la synthèse et de la dégradation du collagène, la phase de remodelage de la cicatrisation de la plaie dépend entièrement de l'activité biologique de tels sous-ensembles de cellules.

Par conséquent, il est possible de supposer que l'incorporation de thymol dans les pansements aurait pu améliorer la collagénisation en modulant la croissance des fibroblastes.

Néanmoins, comme nous avons fourni certaines preuves que le thymol peut affecter la dynamique fibroblastique, il est important de souligner qu'aucun signe grossier ou morphologique de surproduction de collagène, entraînant la formation de cicatrices hypertrophiques, n'a été observé dans cette étude.

Cette caractéristique semble être positive pour le processus de cicatrisation, puisqu'une stimulation à long terme des fibroblastes pourrait conduire à la formation de cicatrices disgracieuses.

En conclusion, nous avons démontré que le thymol avait des effets anti-inflammatoires et que l'incorporation de ce monoterpène dans des pellicules de pansement à base de collagène avait permis d'améliorer la cicatrisation des plaies. Les actions pharmacologiques de *Lippia gracilis* dans les pratiques de médecine populaire peuvent être liées, au moins en partie, à la présence de thymol dans l'huile essentielle.

II.2.4. Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer se traduit par des troubles de la mémoire, de l'orientation dans le temps et l'espace. Les inhibiteurs de la cholinestérase (donépézil, galantamine, rivastigmine) sont prescrits dans les formes légères à modérément sévères de la maladie d'Alzheimer. Ils visent à restaurer une concentration normale d'acétylcholine, un neurotransmetteur qui joue un rôle dans le fonctionnement de la mémoire.

Les effets inhibiteurs du thymol et du carvacrol ont été étudiés (32) sur l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) de *Drosophila melanogaster*.

Les valeurs mesurées de CI_{50} du thymol et du carvacrol sont respectivement de 25 mM et 0,175 mM. En utilisant les graphiques de Lineweaver-Burk, il est constaté que les deux composés présentent un type d'inhibition non compétitif.

Selon les résultats, on peut conclure que le carvacrol est un inhibiteur plus efficace que le thymol. Ces résultats contribueront sûrement à la mise au point d'inhibiteurs plus puissants, spécifiques et efficaces de l'enzyme AChE, à la conception de nouveaux médicaments pour traiter la maladie d'Alzheimer et à des études sur des applications pharmacologiques.

III. Toxicité

Si les effets thérapeutiques du thymol semblent intéressants, notamment en ce qui concerne l'effet anti-infectieux, il ne faut pas négliger les effets secondaires qu'il peut entraîner.

III.1. Rapport d'intoxication

III.1.1. Sur les muqueuses et la peau

Localement (32), le thymol est très irritant, astringent et caustique. Une dermocausticité a également été observée pour des huiles essentielles contenant des monoterpènes à fonction phénols tel que le thymol, le carvacrol ou l'eugénol. Celle-ci peut apparaître dès la première utilisation mais son intensité dépend de la concentration de l'huile essentielle utilisée.

Pour éviter cette irritation, une dilution du thymol ou des huiles essentielles en contenant est nécessaire.

Si les phénols sont réputés pour être irritants pour la peau, on note cependant peu de cas rapportés de réaction allergique au thymol.

Les dentifrices au thymol peuvent entraîner une inflammation des lèvres et de la langue chez les patients sensibles au thymol. De plus, a été rapporté un cas en 1994 d'une femme atteinte de paronychie (infection des tissus entourant l'ongle), traitée pendant 6 semaines par une solution de thymol. Un œdème et un érythème sont apparus autour de la zone traitée avec une forte démangeaison. Les symptômes ont disparu à la suite d'un traitement par corticoïdes et l'arrêt du traitement par thymol. (33)

Chez le rongeur, une DL50 de 243 mg/kg de thymol par voie cutanée (34) a été à l'origine de somnolence.

III.1.2. Par voie orale

Ingéré à la dose de 2 grammes, le thymol provoque déjà un peu de gastralgie avec nausées. A plus haute dose, il entraîne une diarrhée. L'intolérance au thymol se manifeste par des bourdonnements d'oreille, de l'hypothermie, des urines noires ou sanguinolentes et albumineuses. Il est environ 10 fois moins toxique que le phénol ordinaire. (35)

Chez le rongeur (34), la toxicité aiguë du thymol par voie orale varie de 0,9 g/kg à 1,8 g/kg. Les effets retrouvés sont de type troubles gastro-intestinaux, tremblements, somnolence voire coma.

Dans la mesure où les données sur le thymol sont limitées, par extrapolation, la toxicité des phénols en général pourra être étudiée.

Un rapport de cas de survie après une ingestion sévère de phénol a été décrit (36). Il a été administré par erreur à une patiente 23,7 g de phénol à la place d'une prémédication préopératoire. La patiente a immédiatement saisi sa gorge et s'est effondrée. Elle a présenté de manière dramatique la chaîne d'événements consécutifs à une intoxication au phénol. Elle a développé un coma, un arrêt respiratoire, une hypotension, des arythmies ventriculaires, une acidose métabolique, des convulsions, une élévation sélective de son acide et des troubles gastro-intestinaux. Dans la littérature sont souvent mentionnées des insuffisances rénales et hépatiques liées au phénol mais cela n'a pas été observé chez cette patiente.

Le produit chimique qui lui a été administré par erreur est facilement absorbé et sécrété rapidement par le rein, principalement conjugué au glucuronide. Une fraction du phénol peut être excrétée par les poumons et "donner une odeur aromatique à l'haleine", comme l'a montré cette patiente. Le traitement comprenait un lavage gastrique à l'aide d'huile d'olive et de charbon actif et un traitement symptomatique.

De nombreux cas d'ingestion de bain de bouche ont également été notifiés. La présence d'éthanol pourrait justifier les nombreux effets indésirables que l'ingestion accidentelle ou non entraînent, mais quelques études tentent de montrer que la présence d'autres composés tels que les phénols pourrait être à l'origine de la gravité. La toxicité liée aux composés phénoliques présent dans Listerine® a été rapportée (37).

Un homme de 45 ans aurait développé un collapsus cardiovasculaire à la suite d'une ingestion massive et létale de Listerine® (3 litres) ; elle est composée d'eucalyptol (0,092 %), de menthol (0,042 %), de thymol (0,064 %) et de méthyl-salicylate (0,060 %).

Le patient présentait une acidose métabolique profonde à trou anionique élevé. Aucune autre co-ingestion n'a été identifiée. Une autopsie n'a identifié aucune autre cause de décès.

La présence d'éthanol est insuffisante pour expliquer tous ses troubles métaboliques dans la mesure où le patient était un alcoolique chronique et que la quantité d'alcool dans le bain de bouche n'était pas assez importante pour entraîner à elle seule les effets. Habituellement, on note des acidoses métaboliques à trou anionique élevé en présence d'une intoxication au méthanol ou à l'éthylène glycol mais on ne retrouve pas ces composés dans ce bain de bouche. En grande quantité, les composés phénoliques pourraient donc contribuer à cette acidose métabolique profonde avec trou anionique.

Concernant la dose létale des phénols en général, il a été estimé chez l'adulte à une dose orale d'environ 70 mg/kg. D'autres estimations indiquent qu'une dose orale aussi faible que 1 000 mg pourrait être fatale chez l'homme, mais des patients ont parfois survécu à des doses allant jusqu'à 65 grammes (38).

III.1.3. Par voies respiratoires

Selon la monographie HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products) de l'huile essentielle de thym à thymol (39), il ne faut pas appliquer cette huile sur le visage ou au niveau du nez afin d'éviter le risque de spasme laryngé chez l'enfant en dessous de 2 ans.

Un cas d'intoxication a d'ailleurs été recensé (40). Un nourrisson de trois semaines a développé une infection bénigne des voies respiratoires supérieures à la suite de l'utilisation de capsules de Karvol® pour inhalation.

Ce médicament, précédemment commercialisé au Royaume-Uni, était composé de chlorobutanol (0,5 %), lévomenthol (7,9 %), huile essentielle de pin sylvestre (2 %), terpinéol (14,8 %), thymol (0,7 %), huile végétale de pin (22,9 %). Il est utilisé pour soulager les symptômes du rhume (rhinite, congestion nasale). Il est recommandé de ne pas l'utiliser chez les enfants de moins de trois mois.

Seulement, le contenu de la capsule a été appliqué dans le nez du bébé. Ce dernier a alors eu des difficultés respiratoires et, à son arrivée au service des urgences, il a eu un arrêt respiratoire et a été intubé. Il y avait une augmentation des sécrétions dans l'oropharynx et une forte odeur de menthol. La radiographie thoracique montrait des champs pulmonaires normaux. Le seul résultat sanguin anormal était une leucocytose compatible avec une maladie virale et le liquide céphalo-rachidien était clair. 24 heures après son admission, il s'est rétabli et n'a pas développé de pneumonie chimique ni d'œdème pulmonaire retardé.

Le système de surveillance des accidents domestiques (HASS) de 1989 rapporte 19 incidents impliquant l'ingestion ou l'inhalation inappropriée de Karvol®.

C'est à l'aide de ces données de mésusage et d'intoxications que les recommandations d'utilisations des médicaments évoluent. En effet, les médicaments doivent être rangés de façon à être hors de la portée des enfants. De plus, certaines spécialités pharmaceutiques ne doivent pas être utilisées chez les enfants en bas âge. C'est le cas par exemple d'un médicament proche du Karvol, à savoir Vicks Vaporub® : la pommade ne doit pas être utilisée avant 6 ans en local, et a donc été développée une forme patch (à partir de 3 ans) qui présente moins de risque de mésusage et donc de toxicité chez l'enfant.

III.2. Génotoxicité et cytotoxicité

Le carvacrol et le thymol ont montré des effets génotoxiques et cytotoxiques dans les cellules de la moelle osseuse de rat.

Selon les études (41) *in vivo*, le carvacrol et le thymol ont montré un effet génotoxique élevé à une concentration minimale pour le carvacrol de 10 mg/kg et pour le thymol de 40 mg/kg. Ils ont montré des effets clastogènes importants, c'est-à-dire qu'ils ont causé des

cassures de chromosomes, notamment ici des cassures simple brin mais aussi double brin. Ils ont également des effets aneugéniques (anomalies dans le nombre de chromosomes), cependant l'effet est plus faible que l'effet clastogène.

Le carvacrol et le thymol ont également un effet cytotoxique, ils diminuent l'index mitotique (nombre de divisions cellulaires) à toutes les concentrations et à tous les temps de traitement par rapport au contrôle.

En conséquence, le carvacrol et le thymol induiraient des anomalies chromosomiques dans les cellules de la moelle osseuse de rat. De plus, ils auraient un effet cytotoxique en réduisant l'index mitotique. On peut conclure de ces résultats que le carvacrol et le thymol présentent, selon cet article, un risque génotoxique. Pour cette raison, il est nécessaire d'être prudent lors de leur utilisation.

Cependant, la recherche de mutagénicité a donné lieu à des travaux souvent contradictoires dans leurs conclusions. Le test de Ames, qui est un test biologique permettant de définir le caractère mutagène d'un composé chimique en évaluant les dommages causés à l'ADN, est négatif et l'huile essentielle de thym à thymol est considérée comme sans danger dans les conditions habituelles d'emploi.

III.3. Hépatotoxicité

Sur beaucoup de références, nous pouvons lire que les « phénols » ont des propriétés hépatotoxiques qui exigent une grande vigilance quant à leur utilisation, notamment par voie orale. Lorsque l'on pousse les recherches, il est difficile de trouver des sources prouvant cette hépatotoxicité.

Ce serait donc une toxicité supposée. On peut penser que chez un individu hépatosensible, il pourrait y avoir une certaine toxicité, mais encore cela resterait à prouver d'autant plus que l'effet de premier passage hépatique est faible comme nous avons pu le voir précédemment (I.2.2).

Par ailleurs, selon certaines sources, les phénols seraient davantage hépatoprotecteurs à faibles doses (42, 43, 44).

Les nanoparticules de **dioxyde de titane** (nano-TiO₂) présentent des effets hépatotoxiques, l'effet du thymol sur cette toxicité a été étudiée (42) chez le rat.

Pour atteindre cet objectif, les rats ont été divisés en quatre groupes comprenant les groupes témoin, nano-TiO₂ (100 mg/kg), nano-TiO₂ + thymol (10 mg/kg) et nano-TiO₂ + thymol (30 mg/kg). L'administration intragastrique de nano-TiO₂ pendant 60 jours consécutifs a provoqué des modifications histologiques étendues et a induit un stress oxydatif significatif dans les tissus hépatiques comme en témoigne l'augmentation des activités sériques des transaminases. Par ailleurs, les capacités enzymatiques (catalase, superoxyde dismutase,

glutathion peroxydase) ont été mesurées et montre un déclin marqué. D'autres marqueurs ont été étudiés et tout montre une toxicité hépatique induite par les nanoparticules du dioxyde de titane.

Le prétraitement au thymol avant l'administration de nano-TiO₂ a permis d'améliorer de manière significative toutes les altérations biochimiques et histopathologiques de façon dose-dépendante. En conclusion, le thymol protège efficacement contre l'hépatotoxicité induite par le nano-TiO₂ chez le rat par ses propriétés antioxydantes.

L'action du thymol sur l'hépatotoxicité induite par le **tétrachlorure de sodium** (CCl₄) a également été étudiée (43). L'inhalation ou l'ingestion de tétrachlorure de carbone peut causer des effets hépatotoxiques.

L'alanine aminotransférase (ALAT) est une enzyme faisant partie des transaminases dont l'activité est mesurée en biologie clinique lors du bilan hépatique. Elle se trouve en quantité importante dans le foie. Son augmentation dans le plasma sanguin signe une cytolysé hépatique.

Du tétrachlorure de carbone a été coadministré avec différentes doses de thymol, cela a réduit l'activité de l'ALAT induite par le tétrachlorure de carbone. Une diminution significative de l'activité enzymatique a été observée avec 300 mg/kg de thymol. Notons que le thymol seul n'a eu aucune conséquence sur les ALAT.

De manière similaire, la peroxydation des lipides hépatiques était significativement réduite en présence de thymol par rapport aux souris traitées avec CCl₄ seul.

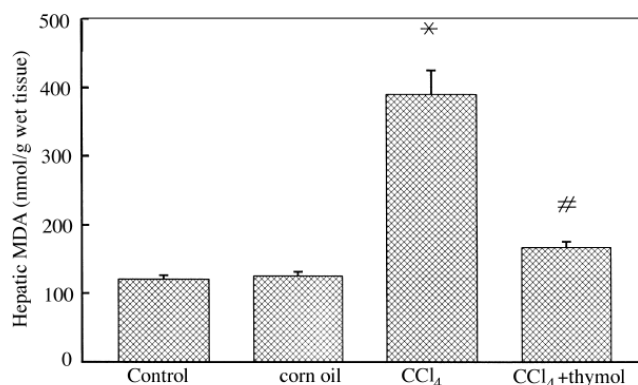


Figure 34. Effet du thymol sur la peroxydation des lipides hépatiques

L'examen histopathologique des coupes de foie des souris traitées avec du tétrachlorure de carbone a révélé une nécrose hépatocellulaire. Les souris traitées simultanément avec 300 mg/kg de thymol et du tétrachlorure de carbone ne présentaient aucun signe de nécrose hépatocellulaire.

En résumé, cette étude suggère que l'administration orale de thymol améliore considérablement l'hépatotoxicité induite par le CCl₄ chez la souris. Le composé peut protéger le foie en empêchant la peroxydation des lipides du réticulum endoplasmique.

De surcroît, l'**eugénol**, un autre monoterpène à fonction phénol a également été testé sur le tétrachlorure de carbone. L'objectif de l'étude (44) était d'étudier l'effet protecteur in vivo de l'eugénol contre la toxicité du CCl₄.

Une autre étude (45) montre à l'inverse l'effet hépatotoxique de l'eugénol. Des souris traitées avec de l'eugénol (400-600 mg/kg, per os) en association avec un inhibiteur de la synthèse du glutathion (GSH), la buthionine sulfoximine (BSO) ont développé une hépatotoxicité caractérisée par une augmentation du poids du foie et des ALAT, une congestion hépatique et une nécrose centrolobulaire des hépatocytes. L'eugénol (jusqu'à 600 mg/kg) seul n'a pas provoqué d'hépatotoxicité.

Plusieurs analogues de l'eugénol ont été examinés pour déterminer leur capacité à causer des lésions hépatiques après administration à des souris en association avec BSO. La comparaison des composés testés (46) a montré que les exigences structurales pour le pouvoir toxique étaient un cycle phénolique portant un substituant allyle en position 4.

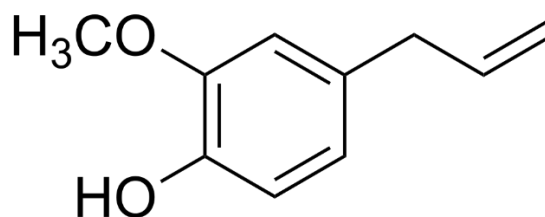


Figure 35. Eugénol ou 4-allyl-2-méthoxyphénol

En conclusion, la toxicité hépatique des composés « phénoliques » serait à étudier en profondeur. Elle pourrait être une toxicité de molécule et non de classe. De plus, cette toxicité semble être liée à une faiblesse hépatique lors d'un déficit en GSH.

Le thymol, en guise de prudence, peut faire l'objet d'une précaution d'emploi chez les personnes hépato-sensibles. Par ailleurs, la toxicité hépatique semble être en relation avec une prise chronique (plus de 15 jours) de fortes doses de thymol.

En conclusion, il sera à retenir concernant la toxicité du phénol la dermocausticité et la nécessité de diluer le thymol dans de l'alcool ou l'huile essentielle dans une huile végétale. Par mesure de précaution, il faut toujours prendre la dose minimale efficace, surtout par voie orale, pendant une période courte (7 jours), ou alors en cas de période longue, il sera nécessaire d'observer des fenêtres thérapeutiques (prise 5 jours sur 7 par exemple).

En précaution d'emploi générale, on évitera son utilisation chez la femme enceinte et allaitante, et chez l'enfant de moins de 12 ans sans avis médical.

De plus, les terpènes en général sont contre-indiqués chez l'enfant de moins de 30 mois. Et on évitera la prise du thymol chez les personnes épileptiques dans tous les cas.

IV. Utilisations pratiques

Une fois la connaissance du champ thérapeutique du thymol et de ses limites d'utilisations en raison de sa toxicité, nous pouvons connaître les utilisations pratiques qui en découlent.

IV.1. Spécialités à base de thymol

IV.1.1. Médicaments

Les spécialités suivantes sont des médicaments sauf mentions contraires. De plus, ils ne sont pas soumis à prescription médicale. Les voies d'applications sont diverses, on retrouve des pommades, des bains de bouche, des capsules pour inhalation...

GLYCO-THYMOLINE 55[®], solution buccale

Composition : Pour 100 g de solution buccale

- Benzoate de sodium 2,040 g
- Salicylate de sodium 0,090 g
- Borax 2,000 g
- **Thymol 0,037 g**
- Cinéole 0,075 g
- Lévomenthol 0,037 g

Excipient à effet notoire : rouge cochenille A (E 124)



Indication : Traitement local d'appoint des affections de la cavité buccale.

Posologie : Usage buccal, 2 à 3 fois par jour.

Ne pas avaler, ne pas appliquer sur la peau ou les muqueuses autres que la muqueuse buccale. Application du produit non dilué sur les zones à traiter, à l'aide de compresses ou d'un coton. Ce produit peut s'employer en bains de bouche : utiliser le produit dilué pour moitié avec de l'eau chaude.

Précaution d'emploi : réservé à l'adulte et à l'enfant de plus 6 ans, ne pas utiliser chez la femme enceinte et allaitante, ne pas utiliser en cas d'hypersensibilité aux salicylés, déconseillé chez les personnes présentant des antécédents de convulsions.

VICKS MENTHOL EUCALYPTUS® , pastilles médicinales

Composition : pour une pastille à sucer

- Lévométhol 8,2758 mg
- Alcool benzylique 5,5160 mg
- Huile essentielle d'eucalyptus rectifiée 2,7580 mg
- Camphre racémique 0,2758 mg
- **Thymol 0,2758 mg**
- Teinture de baume de tolu 0,1378 mg

Excipients à effet notoire : sucre (3,9 g / pastille), saccharose, glucose liquide.

Indication : utilisé pour soulager les irritations de la gorge

Posologie : 4 à 6 pastilles par jour. Laisser fondre lentement les pastilles dans la bouche sans les croquer.

Précaution d'emploi : ne pas utiliser avant 6 ans et chez la femme enceinte ou allaitante, déconseillé en cas d'antécédents de convulsion.



PERUBORE INHALATION® , capsule pour inhalation par vapeur

Composition : pour une capsule

- Huile essentielle de lavande 18,0 mg
- Huile essentielle de thym rouge 34,0 mg
- Huile essentielle de romarin 48,0 mg
- **Thymol 2,0 mg**



Indication : Traitement d'appoint dans les états congestifs des voies aériennes supérieures.

Posologie : En inhalation, 1 capsule matin, midi et soir dans un inhalateur ou un bol d'eau bouillante. La durée de traitement ne doit pas excéder 5 jours sans avis médical.

Précaution d'emploi : ne pas avaler, utiliser chez l'adulte et l'enfant à partir de 12 ans, à éviter pendant la grossesse et l'allaitement, déconseillé en cas d'antécédent de convulsions

VICKS VAPORUB® , pommade

Composition : pour 100g de pommade

- Camphre 5,00 g
- Huile essentielle de térébenthine 5,00 g
- Lévomenthol 2,75 g
- Huile essentielle d'eucalyptus 1,50 g
- **Thymol 0,25 g**

Indication : Traitement d'appoint à visée décongestionnante au cours des affections respiratoires banales (rhumes, toux, bronchites simples)

Posologie :

1. Application cutanée : Appliquer la valeur d'une cuillère à café une à deux fois par jour sur la poitrine ou le cou de préférence après la toilette. Ne jamais dépasser 2 applications par jour.

Mode d'utilisation en application cutanée :

- Remplir la cuillère à café de pommade à ras-bord
- Retourner celle-ci vers l'intérieur du pot et éliminer l'excès de pommade si besoin en raclant la cuillère à café sur le bord du pot pour avoir la dose juste
- Appliquer avec les doigts
- Bien laver la cuillère après utilisation
- Bien se laver les mains après utilisation.



2. En inhalation par fumigation : 1 à 3 fois par jour, faire fondre le volume d'une à deux cuillères à café dans un bol d'eau chaude (attention ne pas utiliser d'eau portée à ébullition) et inhaler les vapeurs par le nez et la bouche. La durée maximale du traitement est de 3 jours.

Mode de préparation par fumigation :

- Verser de l'eau chaude non bouillante dans un bol ou dans un inhalateur
- Remplir la cuillère café de pommade à ras-bord, puis retourner celle-ci vers l'intérieur du pot et éliminer l'excès si besoin

- Incorporer la pommade dans l'eau chaude pour la faire fondre
- Bien laver la cuillère après utilisation

Ne jamais chauffer la préparation ni la réchauffer même au four à micro-ondes à cause des risques de projection. Ne jamais utiliser d'eau bouillante lors de la préparation à cause des risques de brûlures par projection.

Précaution d'emploi : en application cutanée, l'usage est réservé à l'adulte et l'enfant de plus de 6 ans. En inhalation par fumigation, l'usage est réservé à l'adulte et l'enfant de plus de 12 ans. Ne pas utiliser chez la femme enceinte ou allaitante, en cas d'antécédents de convulsions

G.A.E.® , capsules aux essences et gouttes aux essences®

Les capsules sont considérées comme un complément alimentaire, les gouttes aux essences® comme un médicament.

Composition : pour une capsule / pour 100 g de solution buvable

- Huile essentielle de menthe poivrée : 12,9 mg / **1,5 g**
- Huile essentielle de girofle : 4,3 mg / **0,5 g**
- Huile essentielle de thym : 4,3 mg / **0,5 g**
- Huile essentielle de cannelle de Ceylan : 4,3 mg / **0,5 g**
- Huile essentielle de lavande : 4,3 mg / **0,5 g**

Le laboratoire ne précise pas les espèces ni les parties extraites pour l'obtention des huiles essentielles. Après précision auprès du laboratoire, il s'agit du thym vulgaire à thymol et de la lavande fine. Seulement, il n'est pas possible d'avoir le pourcentage de thymol dans cette spécialité.



Indication : Traditionnellement utilisé au cours des affections bronchiques aiguës bénignes pour leurs propriétés antiseptique et expectorante. La forme capsule est réservée à l'adulte et l'enfant de plus de 15 ans. Les gouttes peuvent être utilisées dès l'âge de 30 mois.

Posologie : 1 capsule 3 à 4 fois par jour avant les repas, **25 gouttes** 3 à 4 fois par jour chez l'adulte. De 12 à 20 kg, **5 gouttes** : 3 à 4 fois par jour ; de 20 à 50 kg, **10 gouttes** : 3 à 4 fois par jour

Précaution d'emploi : ne pas utiliser en cas d'antécédents de convulsions ni chez la femme enceinte ou allaitante

IV.1.2. Autres

Différents produits de parapharmacie contenant du thymol ou des huiles essentielles à thymol sont disponibles en France. On retrouve le bain de bouche Listerine® soin blancheur, mais aussi divers collutoires, sirops et pastilles. Il est également utilisé en parfumerie.

Cooper® commercialise des flacons de cristaux de thymol qui peuvent être utilisés comme principes actifs dans des préparations pharmaceutiques.

La dose usuelle (35) est de 0,50 g pour une dose, jusqu'à 3 g pour 24 heures concernant les adultes. La dose maximale est de 4 grammes par jour.

Il peut être utilisé comme antiseptique gastro-intestinal mais il fut autrefois employé comme antihelminthique. Par voie externe, il est utilisé comme antiseptique buccal.

IV.2. Huiles essentielles et principales applications

Les indications des différentes huiles essentielles commercialisées en France contenant du thymol sont les suivantes (47) :

- **Huile essentielle d'ajowan**

Indications :

- Antibactérienne, antivirale, antifongique, antiparasitaire (toutes localisations : cutanées, intestinales, respiratoires, gynécologiques, urinaires et maladie nosocomiale)
- Tonique et stimulante générale (asthénie physique et intellectuelle)
- Indications secondaires : aphrodisiaque, carminative, anti-nauséuse

Données toxicologiques : DL₅₀ orale : 2,78 g/kg et DL₅₀ dermique : 4,80 g/kg

- **Huile essentielle de basilic de Ceylan**

Indications :

- Anti-infectieuse puissante (bronchite, pneumonie, amygdalite, cystite)

- Tonique et stimulante général
- Immuno-modulante

- **Huile essentielle d'Origan compact**

Indications :

- Anti-infectieuse puissante à très large spectre (toutes localisations, prévention des risques infectieux) : amibiase, paludisme, fièvre typhoïde, sinusite, bronchite, turista...
- Tonique et stimulante générale (excellent stimulant physique, mental et sexuel)
- Antalgique

Données toxicologiques : DL₅₀ orale : 3,85 g/kg et DL₅₀ dermique : 3,32 g/kg

Exemples d'utilisation :

- Voie orale : 2 gouttes dans une cuillère à café de miel trois fois par jours pour toutes les infections
- Voie externe : 2 gouttes d'HE associées à 4 gouttes d'huile végétale de noisette sur les infections cutanées trois fois par jour
- Prévention des maladies tropicales : 1 capsule d'origan compact dosé à 75 mg deux à trois fois par jour au repas

- **Huile essentielle de sarriette des montagnes**

Indications :

- Anti-infectieuse majeure à large spectre d'action (utilisé notamment dans les infections pulmonaires, cutanées, urinaires et intestinales)
- Stimulante générale physique, psychique, sexuelle, immunitaire
- Antalgique percutanée

Données toxicologiques : DL₅₀ orale : 3,94 g/kg et DL₅₀ dermique : 3,38 g/kg

Exemples d'utilisation :

- Voie orale : pour les problèmes infectieux, 2 à 3 gouttes trois fois par jour sur un support
- Voie externe : 3 gouttes d'HE et 10 gouttes d'huile essentielle de noisette pour agir localement sur les douleurs articulaires et rhumatismales, 3 fois par jour

- **Huile essentielle de Serpolet**

Indications :

- Anti-infectieuse, antiseptique
- Tonique stimulante générale, stomachique
- Antalgique

- **Huile essentielle de thym à feuille de sarriette**

Indication

- Anti-infectieuse puissante à large spectre
- Immunomodulant, anti hyper gamma globulinémique
- Tonique et stimulante générale
- Antalgique puissante

Données toxicologiques : DL₅₀ orale : 2,20 g/kg et DL₅₀ dermique : 2,10 g/kg

- **Huile essentielle de thym à thymol**

Indications :

- Anti-infectieux puissant à large spectre immunostimulante (toutes localisations : pulmonaires, cutanées, urinaires, intestinales, maladies nosocomiales)
- Tonique et stimulante générale (asthénies physiques résultant de pathologies infectieuses à répétition)
- Antalgique (douleur arthrosique)
- Antiseptique

Données toxicologiques : DL₅₀ orale : 2,84 g/kg et DL₅₀ dermique : 5,00 g/kg

Le Thym vulgaire possède une monographie HMPC (Committee on Herbal Medicinal Products), celle-ci précise que la plante doit contenir au minimum 1,2% d'huile essentielle dont minimum 40% de thymol et carvacrol additionné. Elle précise également qu'il existe six chémotypes d'huile essentielle mais que seul le chémotype thymol est conforme à la définition de la Pharmacopée Européenne (39).

Exemple d'utilisation : Encombrement des bronches chez l'adulte : verser 45 gouttes soit 3 mL d'huile essentielle d'eucalyptus globuleux et 23 gouttes soit 1,5 mL d'huile essentielle de thym commun à thymol puis compléter avec de l'huile végétale de macadamia dans un flacon gradué jusqu'à la graduation 30 mL. Conseil d'utilisation : 10 à 20 gouttes ou « une petite noisette » du mélange en application sur la poitrine 2 à 4 fois par jour pendant 5 à 6 jours.

La posologie de ces différentes huiles essentielles dépend de la voie d'administration :

Voie orale

En pratique courante, on retrouve une posologie similaire à toutes les huiles essentielles qui est de 10 mg HE/kg/j en trois prises soit six gouttes par jour (1). Il est important de noter que cette voie est à proscrire pour toute personne présentant des troubles gastriques, chez les enfants en bas âge et les femmes enceintes. Pour le thymol en raison de son hépatotoxicité supposée, dans la littérature il est conseillé des doses faibles (100 mg/jour) pour une durée prolongée (plus de 6 mois) et plus élevées (500 mg à 1 g/jour) pour des durées plus courtes. Il s'agira toujours d'utilisations ponctuelles ou en cures : traitement de trois semaines maximum, suivi d'une semaine de pause.

Voie rectale

Cette voie d'administration doit être réservée à la prescription médicale. Elle a pour avantage une faible élimination hépatique et favorise une élimination bronchique d'où l'intérêt chez l'enfant dans les affections pulmonaires aiguës. Pour un meilleur confort des patients, il sera utilisé comme excipient du Witepsol (glycérides hémi-synthétiques) mélangé à de l'extrait lipidique d'*Hypericum perforatum* (50 mg par suppositoire pour 1 suppositoire à 150 mg d'HE). Ce dernier permet notamment de prévenir une inflammation de la muqueuse rectale provoquée par l'application d'HE phénolées.

Voie vaginale

La muqueuse vaginale est très perméable et n'autorise que des dosages en huiles essentielles faible. Le thym vulgaire à thymol et le clou de girofle peuvent être utilisés mais à un faible pourcentage (inférieur à 15 %). Cette voie ne sera utilisée que lorsqu'il y aura une prescription médicale.

Voie cutanée

Cette voie permet d'administrer une grande quantité d'huiles essentielles, avec une rapidité d'action thérapeutique, une bonne tolérance, peu de toxicité et une durée d'action prolongée. D'autre part, les composés terpéniques présents dans les huiles essentielles se comportent comme des promoteurs de pénétration influençant le coefficient de perméabilité cutané (alpha-terpinéol, menthone, 1,8 cinéole...). Une toxicité systémique potentielle reste toujours à envisager.

Il est conseillé de diluer les huiles essentielles à phénol à minimum 20 % dans 80 % d'une solution huileuse.

Voie respiratoire

La diffusion des molécules aromatiques pour la voie rhinopharyngée et pulmonaire s'effectue à l'aide d'un diffuseur d'huile essentielle. Ceci permet de traiter différentes pathologies respiratoires. Les inhalations humides (gouttes d'huiles essentielle dans un bol d'eau tiède ou diffuseur) et les inhalations sèches (sur un mouchoir) d'huiles essentielles contenant du thymol sont proscrites chez le nourrisson de moins de 2 ans en raison d'un risque de spasmes laryngés.

Concernant les enfants et les adultes, les différents ouvrages se contredisent quant à l'usage des huiles essentielles phénolées en diffusion ou inhalation.

Précaution d'emploi

Certaines sources conseillent d'associer les huiles essentielles à phénols à d'autres huiles essentielles pour éviter les désordres hépatiques. On peut plutôt considérer qu'un complexe équilibré de 3 à 5 huiles essentielles sera beaucoup plus efficace (action synergétique) qu'une seule huile essentielle. De plus, la saveur des huiles essentielles phénolées est très marquée et l'association à l'huile essentielle de citron par exemple permettrait de masquer cette forte saveur.

Les précautions d'emploi à retenir pour toutes les huiles essentielles contenant du thymol sont :

- Ne pas utiliser avant l'âge de 12 ans sans avis médical
- Ne pas utiliser chez la femme enceinte ou allaitante
- Ne pas utiliser chez les personnes ayant des antécédents de convulsions
- Diluer à 20 % l'huile essentielle lors d'usage cutané

IV.3. Médicaments vétérinaires

Il existe en France trois médicaments antiparasitaires contenant du thymol et ayant une autorisation de mise sur le marché pour le traitement des colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) contre *Varroa destructor* (48).

Ils ne sont pas soumis à prescription médicale et aucune limite maximale de résidus n'est requise dans les denrées alimentaires issus d'animaux.

THYMOVAR® , plaquette pour ruche pour abeille

Composition : Par plaquette

- Thymol : 15 g

Posologie : 2 applications successives pendant 3 à 4 semaines chacune



APIGUARD®, gel pour ruche

Composition : Pour 50 g de gel

- Thymol : 12,5 g

Posologie : 2 applications successives de 50 g de gel par colonie à 2 semaines d'intervalle



APILIFE VAR®, plaquette pour ruche

Composition : Par plaquette

- Thymol : 8,00 g
- Huile essentielle d'Eucalyptus : 1,72 g
- Camphre : 0,39 g
- Lévométhol : 0,39g

Posologie : 1 plaquette par ruche par semaine pendant 4 semaines



Précautions d'emploi pour ces trois médicaments :

- Porter des gants pour manipuler les plaquettes ou barquettes et éviter tout contact avec la peau et les yeux.
- Ne pas utiliser juste avant ou pendant une miellée pour ne pas altérer le goût du miel.
- Ne pas traiter avec le médicament plus de deux fois par an.

Le traitement réalisé à une température supérieure à 30°C peut augmenter le stress et la mortalité des abeilles et du couvain. Une trop faible température (< 15°C) diminue l'efficacité

du traitement. Pour une efficacité optimale, le produit doit être utilisé à la fin de l'été, après la récolte du miel, quand le nombre d'abeilles dans le couvain diminue.

L'efficacité peut varier entre les colonies à cause des conditions de l'environnement (température, ré-infestations etc.). Le médicament doit donc être utilisé comme un traitement parmi d'autres dans un programme de lutte intégrée. La chute des varroas doit être observée régulièrement. Les colonies qui ont un taux de chute de varroas de plus d'un individu par jour, deux semaines après le dernier traitement, doivent subir un traitement supplémentaire en hiver ou au printemps contre les varroas (de préférence avec une autre substance active comme par exemple l'acide oxalique).

Conclusion

Le thymol se présente sous forme de cristaux incolores avec une odeur aromatique caractéristique. Il est soluble dans les alcools, les huiles mais peu soluble dans l'eau. Le thymol, ainsi que les autres terpènes à fonction phénol sont réputés pour leurs propriétés anti-infectieuses marquées. Les effets de la molécule sur plusieurs germes ont été étudiés et confirment cette efficacité.

Le thymol est ainsi doué de propriétés antibactériennes que ce soit sur les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. De ce fait, son utilisation peut être préconisée dans de nombreuses pathologies d'origine bactérienne en première intention.

Les propriétés antivirales du thymol semblent tout aussi intéressantes bien que le nombre d'études sur le sujet soit plus limité. On lui associe également une activité parasiticide et acaricide, mais aussi une efficacité contre les levures et les champignons. Son activité vis à vis des souches résistantes aux traitements médicamenteux peut en faire un traitement de choix lors d'échec thérapeutique.

A tous les niveaux, l'action anti-infectieuse du thymol est remarquable et en fait sa principale indication thérapeutique. L'utilisation d'huiles essentielles riches en thymol permet son utilisation sous des formes variées tout en conservant l'activité anti-infectieuse. Une synergie ou complémentarité des différents constituants des huiles essentielles peuvent être alors appréciées.

D'autres activités thérapeutiques secondaires sont attribuables au thymol, notamment des propriétés antioxydantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires. Ces propriétés peuvent être intéressantes lorsqu'on utilise le thymol pour un problème infectieux pour traiter des symptômes associés au trouble de la maladie.

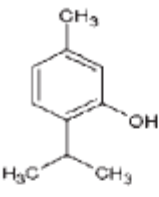
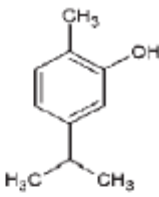
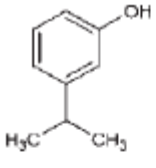
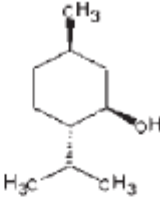
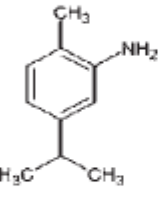
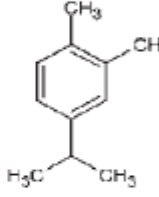
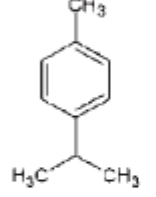
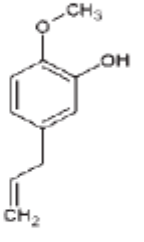
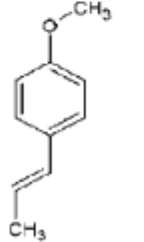
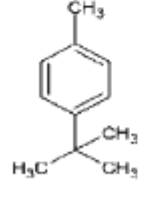
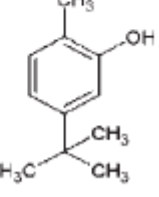
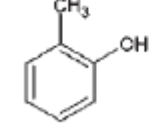
Quelques études sur la maladie d'Alzheimer seraient à approfondir pour connaître la balance bénéfice-risque dans cette pathologie, d'autant plus que les traitements ont été déremboursés par l'assurance maladie en août 2018.

Si une molécule est douée de propriétés thérapeutiques, il ne faut jamais négliger la toxicité qu'elle est susceptible d'entraîner. La dermocausticité que cause le thymol en fait sa première précaution d'emploi. En effet, la dilution dans une huile végétale est de rigueur lors d'une application cutanée. De même, on proscriera la diffusion d'huile essentielle contenant du thymol chez l'enfant de moins de 2 ans. En ce qui concerne l'hépatotoxicité que relatent de nombreuses ressources, elle est à discuter car aucune étude ne semble la prouver. Une précaution de dose et de durée de traitement est de toute façon requise car comme le dit Paracelse : « *Rien n'est poison, tout est poison : seule la dose fait le poison* ». Enfin, Il conviendra de ce fait de limiter l'usage des huiles essentielles à monoterpènes phénolés avec l'utilisation de probiotique afin de ne pas en supprimer les effets.

L'aromathérapie est de nos jours une alternative médicale « à la mode ». La nouvelle génération, soucieuse de sa santé, cherche des méthodes plus naturelles pour se soigner et ont tendance à penser qu'elles sont moins nocives. Mais, comme nous avons pu le démontrer

tout au long de ce travail de thèse, les huiles essentielles sont avant toute chose un véritable concentré de substances actives douées de propriétés pharmacologiques puissantes. Il est donc important aux professionnels de santé de se former pour pouvoir mieux conseiller et diriger les patients.

Annexe

 <p>thymol 92 ± 5 %</p>	 <p>carvacrol 78 ± 10 %</p>	 <p>3-isopropylphenol 91 ± 6 %</p>	 <p>(1<i>R</i>,2<i>S</i>,5<i>R</i>)-(-)-menthol 75 = 11 %</p>
 <p>2-amino-<i>p</i>-cymene 51 ± 13 %</p>	 <p>3,4-dimethylcumene 32 ± 12 %</p>	 <p><i>p</i>-cymene 20 ± 15 %</p>	 <p>eugenol 44 ± 4 %</p>  <p>anethole 9 ± 5 %</p>
 <p>4-<i>tert</i>-butyltoluene 32 ± 14 %</p>	 <p>2-<i>tert</i>-butyl-5-methylphenol 62 = 11 %</p>	 <p><i>o</i>-cresol 60 ± 9 %</p>	

Annexe 1. Activités antivirales de composés structurellement liés au thymol et au carvacrol

Références bibliographiques

1. Michel FAUCON. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale (fondements & aide à la prescription). Sang de la Terre. Paris; 2015. 880 p.
2. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* - ScienceDirect [Internet]. [cité 18 mars 2019]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712007091>
3. Botelho MA, Nogueira NAP, Bastos GM, Fonseca SGC, Lemos TLG, Matos FJA, et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. Braz J Med Biol Res. mars 2007;40(3):349-56.
4. Malkar RS, Yadav GD. Selectivity Engineering in Synthesis of Thymol Using Sulfated ZrO₂-TiO₂. Ind Eng Chem Res. 2 août 2017;56(30):8437-47.
5. Villanueva Bermejo D, Angelov I, Vicente G, Stateva RP, Rodriguez García-Risco M, Reglero G, et al. Extraction of thymol from different varieties of thyme plants using green solvents. J Sci Food Agric. nov 2015;95(14):2901-7.
6. Kohlert C, Schindler G, März RW, Abel G, Brinkhaus B, Derendorf H, et al. Systemic Availability and Pharmacokinetics of Thymol in Humans. J Clin Pharmacol. juill 2002;42(7):731-7.
7. Dorman HJ, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol. févr 2000;88(2):308-16.
8. Chauhan AK, Kang SC. Thymol disrupts the membrane integrity of *Salmonella ser. typhimurium* in vitro and recovers infected macrophages from oxidative stress in an ex vivo model. Res Microbiol. sept 2014;165(7):559-65.
9. Kaloustian J, Chevalier J, Mikail C, Martino M, Abou L, Vergnes M-F. Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. Phytothérapie. juin 2008;6(3):160-4.
10. Franchomme P, Jollois R, Pénoël D. L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. Jollois Roger Eds; 2001. 510 p.
11. Rhayour K, Bouchikhi T, Tantaoui-Elaraki A, Sendide K, Remmal A. The Mechanism of Bactericidal Action of Oregano and Clove Essential Oils and of their Phenolic Major Components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. J Essent Oil Res. juill 2003;15(4):286-92.
12. Sfeir J. Place des huiles essentielles dans le traitement des angines à *Streptococcus pyogenes* [Thèse d'exercice]. [France]: Université d'Angers; 2012.
13. Ahmad A, Khan A, Akhtar F, Yousuf S, Xess I, Khan LA, et al. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. janv 2011;30(1):41-50.
14. Koffi AM, Tonzibo ZF, Delort L, Ruiz N, Caldefie-Chézet L, Chalchat JC. Corrélation entre la composition chimique et l'activité antifongique des huiles essentielles à prédominance thymol sur *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. Phytothérapie. avr 2013;11(2):134-9.

15. Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikail C, Abou L, Portugal H. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytother Res PTR*. déc 2004;18(12):990-5.
16. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock* - ScienceDirect [Internet]. [cité 12 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713505000162>
17. Chami F, Chami N, Bennis S, Bouchikhi T, Remmal A. Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytother Res*. mai 2005;19(5):405-8.
18. Lai W-L, Chuang H-S, Lee M-H, Wei C-L, Lin C-F, Tsai Y-C. Inhibition of *herpes simplex virus* type 1 by thymol-related monoterpenoids. *Planta Med*. oct 2012;78(15):1636-8.
19. Silva Lima A, Milhomem MN, Santos Monteiro O, Arruda ACP, de Castro JAM, Fernandes YML, et al. Seasonal analysis and acaricidal activity of the thymol-type essential oil of *Ocimum gratissimum* and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (*Acar: Ixodidae*). *Parasitol Res*. janv 2018;117(1):59-65.
20. *Varroa destructor* Anderson & Trueman, 2000 [Internet]. Inventaire National du Patrimoine Naturel. [cité 14 févr 2019]. Disponible sur: https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/833018
21. André WPP, Cavalcante GS, Ribeiro WLC, Santos JML dos, Macedo ITF, Paula HCB de, et al. Anthelmintic effect of thymol and thymol acetate on sheep gastrointestinal nematodes and their toxicity in mice. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. sept 2017;26(3):323-30.
22. de Medeiros M das GF, das Graças Freire de Medeiros M, da Silva AC, das Graças Lopes Citó AM, Borges AR, de Lima SG, et al. In vitro antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Parasitol Int*. 60(3):237-41.
23. de Moraes SM, Vila-Nova NS, Bevilaqua CML, Rondon FC, Lobo CH, de Alencar Araripe Noronha Moura A, et al. Thymol and eugenol derivatives as potential antileishmanial agents. *Bioorg Med Chem*. 1 nov 2014;22(21):6250-5.
24. Santoro GF, das Graças Cardoso M, Guimarães LGL, Salgado APSP, Menna-Barreto RFS, Soares MJ. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol Res*. mars 2007;100(4):783-90.
25. Aeschbach R, Löliger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B, et al. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chem Toxicol*. janv 1994;32(1):31-6.
26. Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH, Raneva VG. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem*. janv 1999;64(1):59-66.
27. Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. Antioxidant Activity of Essential Oils. *J Agric Food Chem*. 20 nov 2013;61(46):10835-47.
28. Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti V, Venuti V, Sulfaro V, De Pasquale A, et al. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chem*. mars 2005;89(4):549-54.

29. Beer A-M, Lukanov J, Sagorchev P. Effect of Thymol on the spontaneous contractile activity of the smooth muscles. *Phytomedicine*. janv 2007;14(1):65-9.
30. Bruneton Jean. *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*. 5e édition. Lavoisier; 2016. 1487 p.
31. Riella KR, Marinho RR, Santos JS, Pereira-Filho RN, Cardoso JC, Albuquerque-Junior RLC, et al. Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. *J Ethnopharmacol*. sept 2012;143(2):656-63.
32. Askin H, Yildiz M, Ayar A. Effects of Thymol and Carvacrol on Acetylcholinesterase from *Drosophila melanogaster*. *Acta Phys Pol A*. sept 2017;132(3):720-2.
33. Lorenzi S, Placucci F, Vincenzi C, Bardazzi F, Tosti A. Allergic contact dermatitis due to thymol. *Contact Dermatitis*. déc 1995;33(6):439-40.
34. PubChem. Thymol [Internet]. [cité 4 avr 2019]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6989>
35. François Dorvault, G. Hazebroucq. *Dorvault : L'officine*. 22^e éd. Vigot; 1996.
36. Haddad LM, Dimond KA, Schweistris JE. Phenol Poisoning. *Ann Emerg Med*. 1 juill 1979;8(7):267-9.
37. Fatal large-volume mouthwash ingestion in an adult: a review and the possible role of phenolic compound toxicity. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 14 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14984634>
38. Toxicological Profile for Phenol. oct 2006;269.
39. European Medicines Agency [Internet]. European Medicines Agency. [cité 4 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en>
40. Blake KD. Dangers of common cold treatments in children. *The Lancet*. mars 1993;341(8845):640.
41. The in vivo genotoxic effects of carvacrol and thymol in rat bone marrow cells. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 14 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18361405>
42. Jafari A, Rasmi Y, Hajaghazadeh M, Karimipour M. Hepatoprotective effect of thymol against subchronic toxicity of titanium dioxide nanoparticles: Biochemical and histological evidences. *Environ Toxicol Pharmacol*. mars 2018;58:29-36.
43. Alam K, Nagi MN, Badary OA, Al-Shabanah OA, Al-Rikabi AC, Al-Bekairi AM. The protective action of thymol against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice. *Pharmacol Res*. août 1999;40(2):159-63.
44. Nagababu E, Sesikeran B, Lakshmaiah N. The protective effects of eugenol on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Free Radic Res*. déc 1995;23(6):617-27.
45. Mizutani T, Satoh K, Nomura H, Nakanishi K. Hepatotoxicity of eugenol in mice depleted of glutathione by treatment with DL-buthionine sulfoximine. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. févr 1991;71(2):219-30.

46. Mizutani T, Satoh K, Nomura H. Hepatotoxicity of eugenol and related compounds in mice depleted of glutathione: structural requirements for toxic potency. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* juill 1991;73(1):87-95.
47. Dominique BAUDOUX. *Aromathérapie : biochimie, propriétés pharmacologiques, indications thérapeutiques.* Dunod; 2017. 544 p. (Les nouveaux chemin de la santé).
48. Index des RCP [Internet]. [cité 2 avr 2019]. Disponible sur: <http://www.ircp.anmv.anses.fr/>

Serment De Galien

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

Le thymol – Sources, propriétés et applications

Le thymol se présente sous formes de cristaux incolores avec une odeur aromatique caractéristique. Il appartient à la famille des monoterpènes à fonction phénol et fait partie des nombreux composants que l'on peut retrouver dans les huiles essentielles. Présent en large proportion dans les huiles essentielles de thym vulgaire et d'origan compact, il est doté d'une action anti-infectieuse remarquable. Il sera donc utilisé principalement comme antibactérien, antivirale, antiparasitaire ou encore antifongique. Chez le rongeur, la toxicité aiguë du thymol varie de 0,9 g/kg à 1,8 g/kg par voie orale et est de 243 mg/kg par voie cutanée. Aujourd'hui, quelques médicaments à usage humain et à usage vétérinaire à base de thymol sont disponibles sur le marché français mais son emploi est également largement répandu à travers l'utilisation d'huiles essentielles.

Mots-clés : [thymol, phénol, huiles essentielles, anti-infectieux]

Thymol – Sources, properties and applications

Thymol occurs in the form of colorless crystals with a characteristic aromatic odor. It belongs to the family of monoterpenes with phenol function and is one of the many components that can be found in essential oils. Found in large amount in essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum compactum*, it has remarkable anti-infectious properties. Therefore, it will be mainly used as an antibacterial, antiviral, antiparasitic or antifungal. In rodents, the acute oral toxicity of thymol ranges from 0,9 g/kg to 1,8 g/kg and is 243 mg/kg by dermal route. Nowadays, some thymol-based medicines for human use and veterinary use are available on the French market but its use is also widely spread through essential oils.

Keywords : [thymol, phenol, essentials oil, anti-infectious]

