

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

Intitulé

**L'activité antioxydante de trois plantes aromatiques :
Lavandula stoechas, *Mentha piperita L*, *Thymus hirtus*.**

Présenté par :

- ❖ Bouaouina Chaima
- ❖ Bouguerra Raouia
- ❖ Djemli Khouloud
- ❖ Houti Sarra

Membre de Jury :

Mme. Laib I. (MCA)	Président	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Ouamane S. (MCB)	Promoteur	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Bouhaddouda N. (MCB)	Examineur	Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2021/2022



Remerciement

S'il fait beaucoup de motivation, de rigueur et d'enthousiasme pour mener à bien ce mémoire, alors, ce travail de recherche a eu besoin de la contribution de plusieurs personnes, que nous tenons à remercier :

Louange à Dieu qui nous donné la force, le courage et l'espoir nécessaire pour accomplir ce travail et surmonter l'ensemble des difficultés.

Nous exprimons notre gratitude et nos remerciements à nos parents qui ont fait de leur mieux pour nous aider.

On tient à remercier notre encadreur, Mme. Ouamane souheïla pour avoir guidée et dirigée ce travail dans le bon sens et pour tous ses précieux conseils, pour son écoute active, sa disponibilité

« Merci Beaucoup Madame »

Nous tenons particulièrement à remercier les membres de jury d'avoir acceptés de juger ce travail :

Mme. LAIB I. D'avoir accepté de juger ce travail et de nous faire l'honneur de présider ce jury de mémoire. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect.

*Mme. Bouhadouda N. d'avoir accepté d'examiner ce travail
et de participer au jury de ce mémoire. Veuillez accepter
notre profonde gratitude.*

*Ainsi qu'à nos enseignants et l'ensemble du personnel du
département de la biologie de l'université de 20 aout 1955 -
Skikda-*

*Nos sincères remerciements vont également à tous ceux qui
ont collaboré de près ou de loin à la réussite de ce travail.*



*Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de nos avoir
donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser
ce travail.*

A Mon défunt adorable père : Abd el hamid (رحمه الله)

*A ma chère maman : Djemaa pour son sacrifice, son soutien et sa
souffrance avec moi durant toutes mes années d'étude, et sa
confiance, que dieu te garde pour nous.*

*Sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, Aucune dédicace ne
pourrait exprimer mon respect, ma
Considération et mes profonds sentiments envers eux.*

A mes frères : Adel et Badri.

A mes soeurs : Farida, Ghania, Nadia et Samiha.

A mes beaux neveux et nièces et surtout Jana et Takwa.

*A toute la promotion de Biochimie Appliquée Skikda 2022 sans
exception*

« Que Dieux nous guide tout au long de notre vie »

Raouia



Dédicace

*En signe de respect et de reconnaissance, je remercie DIEU qui m'a
aidé à réaliser ce mémoire.*

*A l'homme, mon précieux offre du Dieu, qui doit ma vie, ma réussite
et tout*

mon respect : mon cher père Rachid (رحمة الله عليه)

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, mon adorable
Mere Dalila.*

Mes chères frères et ma seul soeur.

À mes très chères Amies.

*Et toute la promotion de master Biochimie appliqué 2021/2022, et
nous*

souhaiterons bonne chance dans leur vie.

Sarra



Merci beaucoup à ma généreuse famille, ma mère Fatima, mon père

Mukhtar

Mes soeurs Ikram, Laina, Kholoud, Zahra, Duaa Merci,

Mes amis, qui vous avez trouvé dans les moments difficiles

Merci à tous ceux qui m'ont aidé et m'ont donné l'espoir de terminer

le parcours académique qui a abouti à l'obtention du diplôme

Merci à tous ceux qui m'ont appris

Chaima



Avant tout, nous remercions “Allah” le tout puissant, qui ma donne le courage pour terminé cette travail.

Mon père Djemli Hossein et ma mère Wahiba, vous êtes la chose la plus précieuse de ma vie. Merci pour votre patience et votre soutien continu tout la période d’études. Vous êtes mon espoir.

Je remercie l’homme de ma vie, mon mari Ahmed, qui me soutient tout la période d’études ‘

Mes frères Aymen, et Yasser.

Ma sœur Basma et toute ma famille et mes amis.

Je remercie aussi mes collègues dans cette recherche.

Khouloud

Sommaire

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

CHAPITRE 1 : Synthèse bibliographique

1.Généralités sur les plantes aromatiques étudiées 3

1.1.*Lavandula stoechas* 3

1.1.1.Description botanique 3

1.1.2.Répartition géographique4

1.1.3.Classification botanique.....4

1.1.4.Composition chimique.....4

1.2.*Mentha piperita L.*.....5

1.2.1.Description botanique.....5

1.2.2.Répartition géographique6

1.2.3.Classification botanique.....6

1.2.4.Composition chimique.....6

1.3.*Thymus hirtus*7

1.3.1.Description botanique.....7

1.3.2.Répartition géographique8

1.3.3.Classification botanique.....8

1.3.4.Composition chimique.....8

2.L'activité antioxydante9

2.1.Radicaux libres9

2.1.1.Différentes formes des radicaux libres.....9

2.2.Stress oxydant.....11

2.2.1.Définition.....11

2.2.2.Les causes essentielles.....11

2.2.3.Conséquences du stress oxydant.....12

2.2.4.Maladies humaines liées au stress oxydant.....12

2.3. Antioxydants.....	13
2.3.1. Définition.....	13
2.3.2. Le système antioxydant.....	14
2.3.2.1. Antioxydant exogène.....	14
2.3.2.1.1. Vitamines C.....	14
2.3.2.1.2. Les polyphénols.....	15
2.3.2.2. Antioxydant endogène.....	16
2.3.2.2.1. Antioxydant endogène enzymatique.....	16
2.3.2.2.2. Antioxydant endogène non enzymatique.....	17
2.3.2.3. Antioxydant synthétique.....	18
2.4. Mécanisme d'action d'antioxydant.....	18

CHAPITRE 2 : Etude expérimentale

1. Matériels et Méthodes.....	20
1.1. Matériel.....	20
1.1.1. Matériel végétale.....	20
1.1.2. Matériel du laboratoire	20
1.2. Méthodes.....	20
1.2.1. Séchage et broyage.....	20
1.2.2. Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes.....	21
1.2.3. Détermination du Rendements des extraits secs	23
1.2.4. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux.....	23
1.2.4.1. Dosages des composés phénoliques.....	23
1.2.4.2. Dosages des flavonoïdes totaux.....	24
1.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante.....	24
1.2.5.1. Test de piégeage du radical libre DPPH.....	24
2. Résultats et Discussion.....	28
2.1. Etude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes	28
2.1.1. Rendement en extrait sec.....	28
2.1.2. Teneur en composées phénoliques.....	30
2.1.3. Teneurs en flavonoïdes	33
2.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante des trois plantes	37

Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	43

Résumé

Notre travail est basé sur l'étude de l'activité antioxydante des plantes aromatiques de la flore algérienne de la région de Skikda, les Frères Souissi (Zaouia) et Bekkouch Lakhder (Azzaba): *Mentha piperita*, *Lavandula stoechas*, *Thymus hirtus*, en procédant à l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes par deux méthodes différentes : macération (macération éthanolique, macération aqueux) et infusion.

Le dosage des polyphénols par le réactif Folin-Ciocalteu et des flavonoïdes par la $AlCl_3$ dans différents extraits préparés à partir des feuilles sèches afin de déterminer leur teneur en métabolites secondaires qui auraient une activité antioxydante et pourrait réguler le stress oxydatif dans notre corps. Nous avons également testé l'activité antioxydante de ces trois plantes par le radical libre DPPH.

L'étude phytochimique a effectivement prouvé l'existence des polyphénols et des flavonoïdes dans nos trois plantes.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH révèle, que tous les extraits sont moins actifs en comparaison avec les standards de référence BHT et BHA dont les IC_{50} sont 0,1mg/ml, 0.09mg/ml respectivement, l'extrait éthanolique de *Thymus hirtus* et *Lavandula stoechas* sont les plus actifs, avec des IC_{50} de l'ordre de 0.22mg/ml et 0.24mg/ml, respectivement.

Mots clés : *Mentha piperita* L, *Lavandula stoechas*, *Thymus hirtus*, polyphénols, flavonoïdes, antioxydante, DPPH.

Abstract

Our work is based on the study of the antioxidant activity of the aromatic plants of the Algerian flora of the region the Souissi Brothers (Zaouia) and Bekkouch Lakhder in Azzaba Skikda: *Mentha piperita*, *Lavandula stoechas*, *Thymus hirtus*, we started our work by the extraction of polyphenols and flavanoids by two different methods: maceration (ethanolic maceration, aqueous maceration) and infusion. The dosage of polyphenols by Folin-Ciocalteu reagent and flavonoids by AlCl₃ in different extracts prepared from dry leaves in order to determine their content of these secondary metabolites which would have antioxidant activity and could regulate oxidative stress in our body. Then we tested the antioxidant activity of the three plants by the free radical DPPH. The phytochemical study effectively proved the existence of polyphenols and flavonoids in our three plants.

The evaluation of the antioxidant activity by the DPPH test reveals that all the extracts are less active in comparison with the BHT and BHA reference standards whose IC₅₀s are 0.1mg/ml, 0.09mg/ml respectively, the ethanolic extract of *Thymus hirtus* and *Lavandula stoechas* are the most active, with IC₅₀s of the order of 0.22mg/ml and 0.24mg/ml, respectively.

Key words: *Mentha piperita* L, *Lavandula stoechas*, *Thymus hirtus*, polyphenols, flavonoids, antioxidant, DPPH.

الملخص

يعتمد عملنا على دراسة النشاط المضاد للأكسدة للنباتات العطرية للنباتات الجزائرية في منطقة إياخوة السويسي (الزاوية) وبكوش لخصر في عزابة سكيكدة: النعناع ، الخزامى ، الزعيرة، بدأنا عملنا من قبل استخراج البوليفينول والفلافونويد بطريقتين مختلفتين: النقع (النقع الإيثانولي ، النقع المائي) والتسريب.

جرعة البوليفينول بواسطة Folin-Ciocalteu والفلافونويد بواسطة $AlCl_3$ في مستخلصات مختلفة

محضرة من الأوراق الجافة من أجل تحديد محتواها من هذه المستقبلات الثانوية التي سيكون لها نشاط مضاد للأكسدة ويمكن أن تنظم الإجهاد التأكسدي في أجسامنا. ثم اختبرنا النشاط المضاد للأكسدة للنباتات الثلاثة بواسطة الجذور الحرة DPPH.

أثبتت الدراسة الكيميائية النباتية بفعالية وجود البوليفينول والفلافونويد في نباتاتنا الثلاثة ، وكانت النتيجة أن النباتات الثلاثة كانت غنية بالبوليفينول والفلافونويد.

يكشف تقييم نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبار DPPH أن جميع المستخلصات أقل نشاطاً مقارنةً بالمعايير المرجعية BHA و BHT مع IC50 : 0.09 ملغ/مل، 0.1 ملغ/مل على التوالي.

المستخلص الإيثانولي من الزعيرة والخزامى هي الأكثر نشاطاً، مع IC50 : 0.22 ملغ / مل و 0.24 ملغ / مل على التوالي.

الكلمات المفتاحية: النعناع، الخزامى ، الزعيرة، البوليفينول ، الفلافونويد، مضادات الأكسدة، DPPH.

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

AND : Acide désoxyrébonucléique.

BHA : Butylhydroxyanisole.

BHT : Butylhydroxytoluène.

Cat : Catalase.

CCl₄ : Tétrachlorure de carbone.

Cd: Cadmium.

DPPH : Le2, 2'Diphényle-1-picrylhydrazyl.

EBV : Le virus d'Epstein-Barr.

EC50 : Efficient concentration 50.

EQ : Equivalent quercétine.

ERA : Espèces réactives de l'azote.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

Fe : Symbole chimique du fer.

GPx : La glutathion peroxydase.

GSH : Glutathione.

H₂O : Molécule d'eau.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HBV : Le virus de l'hépatite B.

IC50 : Concentration inhibitrice de 50.

Mg EAG/g ES : Milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec.

Mg EQ/g ES : Milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec.

Mg/ml : Milligramme par millilitre.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NO₂ : Dioxyde d'azote

NO: Monoxyde d'azote.

1O₂ : Oxygène Singluet.

O₂⁻ : Anion superoxyde.

O₂₂⁻ : Anion peroxide.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

ONOOH : Acide peroxynitrique.

PG : Gallate propylée.

PUVA : L'irradiation du corps par des rayons ultraviolets A.

ROO[•] : Radical Peroxyle.

ROOH: Hydroperoxyde organique.

SOD : Super oxyde dusmutase.

TBHQ : Tétrabutylhydroquinone.

Liste des figures

Figure 1: Photo originale de <i>Lavandula stoechas</i>	3
Figure 2: Photo originale de <i>Mentha piperita L.</i>	5
Figure 3: La structure chimique de quelques compositions chimiques de <i>Mentha piperita L.</i>	7
Figure 4: Photo originale de <i>Thymus hirtus</i>	7
Figure 5: Balance entre les antioxydants et les oxydants (un déséquilibre = un stress oxydatif).....	11
Figure 6: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	12
Figure 7: Structure chimique de l'acide ascorbique.....	14
Figure 8: Classes des polyphénols.....	15
Figure 9: Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques.....	18
Figure 10: Photos originale présente le séchage et le broyage des plantes étudiées.....	21
Figure 11: La forme réduite et non réduite de la molécule du DPPH.....	25
Figure 12: Le protocole d'extraction utilisé dans laboratoire.....	27
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	31
Figure 14: Teneur en polyphénols des extraits des trois plantes étudiées.....	31
Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	34
Figure 16: Teneur en flavonoïdes des extraits des plantes.....	34

Liste des tableaux

Tableau 1: Position systématique de <i>lavandula stoechas.L</i>	4
Tableau 2: Constituants photochimique de <i>Lavandula stoechas</i> sur nature chimique de base.....	4
Tableau 3: Classification botanique de <i>Mentha piperita L</i>	6
Tableau 4: Classification botanique de <i>Thymus hirtus</i>	8
Tableau 5: Espèces réactives oxygénées et azotées.....	10
Tableau 6: Relations entre les maladies et le stress oxydant.....	13
Tableau 7: Les concentrations des extraits de plantes et leurs additifs en méthanol et solution DPPH.....	25
Tableau 8: Rendements d'extraction des extraits obtenus à partir des feuilles de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Mentha piperita L</i> et <i>Thymus hirtus</i> à différents modes d'extraction.....	28
Tableau 9: Les résultats du dosage des teneurs en polyphénols des extraits obtenus par infusion.....	32
Tableau 10: Les résultats du dosage des teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus par infusion.....	35
Tableau 11: Les concentration IC50 des extraits des feuilles des trois plantes.....	37



Introduction

Avec une superficie de 2 381 741 km², l'Algérie est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées (**Ilbert et al., 2016**).

Actuellement environs 60 à 80 % de la population utilisent la médecine traditionnelle pour le traitement des pathologies (**Libman et al., 2005**).

Un grand nombre de plantes aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent application dans divers domaines en savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture (**Mohammedi, 2005**).

De multiples constituants de ces plantes aromatiques tels que les polyphénols jouent un rôle dans cet effet protecteur.

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (**Bruneton, 1999 ; Lugasi et al., 2003**).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols (**King et Young., 1999 ; Tapiero et al., 2002**).

les polyphénols et les flavonoïdes constituent les groupes responsables de l'activité antioxydante des plantes (**Osman et al., 2013**).

Ce travail est réalisé dans le but d'évaluer l'activité antioxydante de trois plantes aromatiques provenant des deux régions de Skikda (la région les Frères Souissi (Zaouia) et Bekkouch Lakhder à Azzaba): *Lavandula stoechas*, *Mentha piperita L*, *Thymus hirtus*.

Ce travail se divise en deux chapitres :

- ✓ Le premier chapitre reporte une étude bibliographique constituée par des généralités sur les plantes aromatiques étudiées et l'activité antioxydante.
- ✓ La deuxième chapitre représente l'étude expérimentale où nous présenterons le matériel utilisé, les méthodes suivies, les résultats et la discussion.

Chapitre 1 :

Synthèse

bibliographique

1. Généralités sur les plantes aromatiques étudiées :

1.1. *Lavandula stoechas* :

La région méditerranéenne se caractérise par une couverture végétale diversifiée et le genre *Lavandula* est l'une des plantes médicinales et aromatiques les plus importantes de cette région. Elle est utilisée en médecine traditionnelle comme traitement de l'anxiété et de l'insomnie et pour améliorer la qualité du sommeil depuis longtemps. La lavande est couramment utilisée dans les parfums, les savons, les poudres pour le bain et les sachets parfumés. Elle peut aromatiser des thés ou des aliments même à faible concentration (**Bousta et Farah, 2020**).

1.1.1. Description botanique :

Lavandula est un sous-arbrisseau de la famille des Labiées abondant dans le bassin méditerranéen. Le genre se compose d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne.

Ce sous-arbrisseau est à tige et feuilles persistantes, il peut atteindre une longueur d'un mètre, étroit vert pâle, s'étend du gris bleuâtre profond au vert à brun pâle, fleurs de couleur bleu – violet (fig 1). D'autres variétés sont à fleurs blanches et roses. L'ensemble de la plante est très aromatique comprenant fleurs et feuilles (**Mohammedi et Atik, 2012**).



Figure 1: Photo originale de *Lavandula stoechas*.

1.1.2. Répartition géographique :

Il est originaire du vieux monde et se trouve du l'Afrique de l'est, la Méditerranée, Cap-vert des Iles Canaries, Europe du sud, Bertogal et Espagnol, Asie du sud-est au sud-est de l'Inde. La plante cultivée à Peshawar en Afghanistan est de la meilleure qualité de lavandula, celle cultivée dans la région du Hedjaz et de Rome est plus persuasive en valeur médicinale, (Carrasco et al., 2015).

1.1.3. Classification botanique :

Le tableau 1 représente la classification botanique de *lavandula stoechas*.

Tableau 1: Position systématique de *lavandula stoechas* (Aftab siddiqui et al ., 2017).

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées / Labiatae
Genre	Lavandula
Espèce	<i>Lavandula stoechas</i>

1.1.4. Composition chimique de *Lavandula stoechas* :

Les constituants photochimiques de *Lavandula stoechas* sur nature chimique de base est indiquée dans le tableau 2.

Tableau 2: Constituants photochimiques de *Lavandula stoechas* sur nature chimique de base (Aftab siddiqui et al., 2017).

Substance	Exemple
Substance organique	Les glucides, polyphénol, flavonoïdes, tannins, stéroïdes, Terpinés et résines
Substance inorganique	Aluminium, calcium, Fer, magnésium, potassium et strontium
Huile essentiel : contient 51 composes	α -pinène, fenchone, camphre, acétate de myrtenyl
Acide terpanique	β -stostérol, acide Ursolique, Apigénine, Lutéoline, acide rosmarinique

1.2. *Mentha piperita* L :

Mentha piperita L, une plante aromatique importante qui appartient à la Famille des Lamiacées et communément appelée menthe poivrée est un hybride de *M. spicata* L. (menthe verte) et *Mentha aquatic*. Elle a été cultivé par les anciens Égyptiens et documenté dans la pharmacopée islandaise du XIIIe siècle (singh et al., 2015).

1.2.1. Description botanique :

C'est une plante vivace par son rhizome qui se propage sous terre ; elle se propage également par stolons. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, vert foncé et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre. Elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes. Ses tiges sont violacées de section carrée, ses fleurs se trouvent tout en haut de la plante et sont rose violet. Sa hauteur en centimètres est de 10 à 14 cm (Ilboudo, 2016) (fig2).



Figure 2: Photo originale de *mentha piperita* L.

1.2.2. Répartition géographique :

La menthe poivrée est originaire de l'Inde. Elle est cultivée en Europe centrale et du sud, Amérique du Nord et du sud, Asie, Afrique du Nord, Presque dans le monde entier. Elle se trouve à l'état sauvage dans toute l'Australie, l'Amérique du Nord et en Europe (Charles, 2013).

1.2.3. Classification botanique :

Le tableau suivant représente la classification botanique de *Mentha piperita* L.

Tableau 3: Classification botanique de *Mentha piperita* L (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Mentha
Espèce	Mentha piperita

1.2.4. Composition chimique :

Composé principalement de menthol (29–48%), de menthone (20–31 %), le menthofurane (6,8 %) et l'acétate de menthyle (3 à 10 %) (fig3).

Les autres ingrédients pharmacologiquement actifs comprennent les substances amères, l'acide caféique, les flavonoïdes (12 %), les polyphénols polymérisés (19 %), les carotènes, les tocophérols, la bétaine, la choline et tannins (singh et al., 2015).

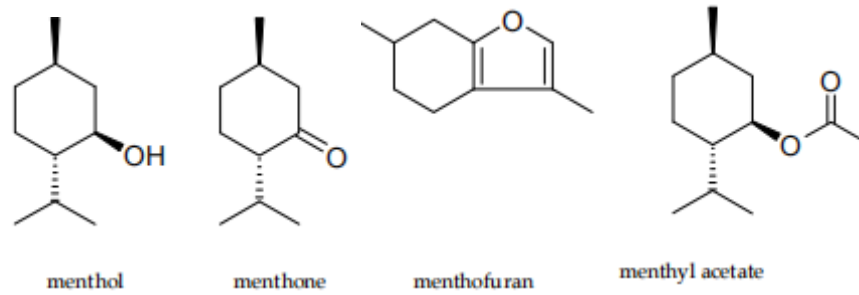


Figure 3: La structure chimique de quelques compositions chimiques de *Mentha piperita L* (kalemba, 2019).

1.3. *Thymus hirtus* :

Le thym provient du grec *thumon* qui signifie « offrande (que l'on brûle) » et « parfum », à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Rey, 1992).

Le thym (Elzeitra), du genre *Thymus*, de la famille des lamiacées, est une plante d'utilisation commune dans la société algérienne (Nouasri, 2017).

Le thym est représenté par de nombreuses espèces et parmi ces espèces nous avons choisi le *Thymus hirtus* (fig4). Il représente l'un des remèdes populaires les plus utiles dans les traitements des affections respiratoires (rhumes, grippe, angines) et des troubles gastriques (dyspepsies, crampes, flatuosités) (Bézanger-Beauquesne et al., 1990 ; Baba Aissa, 1999).



Figure 4: Photo originale de *Thymus hirtus*.

1.3.1. Description botanique :

Pédicelles bien plus courts que le calice. Feuilles florales plus courtes que les fleurs. Plante basse, diffuse, peu hispide, à fleurs pâles (Quezel & Santa, 1963).

1.3.2. Répartition géographique :

Le thym est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) (Benkiniouar et al., 2007). Elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et l'Arabie de sud-ouest en passant par la péninsule de Sinaï en Egypte (Mebarki, 2010). Elle est cultivée aussi dans le nord de la France, l'Europe centrale, Afrique orientale et l'Amérique du nord...etc. (Wichtl et Anton, 2003). *Thymus hirtus* une des douze espèces de *Thymus* poussant en Algérie, est endémique de la péninsule ibérique, Algérie et Maroc. (Zeghib et al., 2021).

En Algérie, le *Thymus hirtus* est largement distribué dans l'est de l'Algérie (Merghem et al., 1995), est une espèce commune cultivée dans les jardins du Tell (Baba Aissa, 1999).

1.3.3. Classification botanique :

D'après Touhami (2017), la systématique du genre *Thymus* est la suivante (tab 4) :

Tableau 4: Classification botanique de *Thymus*.

Règne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Métachlamydées (gamopétales)
Ordre	Tubiflorales (Lamiales)
Sous ordre	Verbéninées
Famille	Labiacées (labiée)
Genre	Thymus

1.3.4. Composition chimique :

Le *Thymus hirtus* synthétise de nombreux flavones agly-cônes, dont certains sont communs, l'apigénine, la lutéoline et la diosmétine, identifiées par des procédures, alors que cinq autres ont montré un comportement chromatographique par rapport à leurs propriétés spectrales. Quatre ont été identifiés par des données spectrométriques comme 8-C-p-hydroxybenzyl-lutéoline, 8-C-p-hydroxybenzyl-diosmétine, 8-C-p-hydroxybenzyl-apigénine et

8-C-p- hydroxybenzylquercétine, respectivement. Le reste composé, obtenu en quantité infime, a été provisoirement identifié comme 8-C-p-hydroxybenzylkaempférol (**Merghem et al., 1995**).

2. L'activité antioxydante :

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert et al., 2005**).

2.1. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des entités chimiques (espèces, atomes, molécules ou des fragments moléculaires) possédant un électron (ou plus) non apparié « célibataire » sur la couche périphérique du squelette moléculaire. Cet électron naît suite à un apport d'énergie susceptible et suffisant pour se réapparier, et qui a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité, déstabilisant ainsi d'autres molécules (**Bendif, 2017**).

2.1.1. Différents formes des radicaux libres :

Les radicaux libres interviennent dans les phénomènes du stress oxydant, par la présence d'un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote, ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives: les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERA) (**Favier, 2003**) (tab5).

Tableau 5: Espèces réactives oxygénées et azotées (Devasagayam et al., 2004).

Espèces réactives	Symbole	Localisation/intérêt biologiques
Espèces réactives oxygénées		
Anion superoxyde	O_2^-	Généré dans les mitochondries, dans le système cardiovasculaire et autres et donne naissance au OH°
Radical hydroxyle	OH°	Très réactif, généré lors de la surcharge en fer (réactions de Fenton)
Hydroperoxyde	$H_2 O_2$	Les mitochondries et le réticulum endoplasmique sont d'importants sites producteurs de peroxyde d'hydrogène. Plusieurs enzymes sont responsables de cette production. $H_2 O_2$ peut aussi apparaître spontanément, lors de la recombinaison de deux anions superoxyde
Radical Peroxyle	ROO^-	Réactif, formé à partir de lipides, protéines, ADN et sucres, etc., pendant les dommages oxydatifs
Hydroperoxyde organique	$ROOH$	Réagit avec les métaux de transition
Oxygène Singluet	$1 O_2$	Très réactif, formé pendant la photosensibilisation et lors des réactions chimiques
Ozone	O_3	Présent comme un polluant atmosphérique, peut réagir avec différentes molécules, donnant $1 O_2$
Espèces réactives azotiques		
Monoxyde d'azote	NO°	Neurotransmetteur et régulateur de la pression sanguine, peut produire des oxydants puissants
Dioxyde d'azote	NO_2	Formé pendant une pollution atmosphérique par dioxyde
Peroxynitrite	$ONOO^-$	Hautement réactif, formé de NO et superoxyde
Acideperoxynitrique	$ONOOH$	Protoné à partir de peroxynitrite

2.2. Stress oxydant :

2.2.1. Définition :

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents.

Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (Favier, 2003) (fig5).



Figure 5: Balance entre les antioxydants et les oxydants (un déséquilibre = un stress oxydatif) (Adjimani et Asare, 2015).

2.2.2. Les causes essentielles :

Ce stress oxydant est soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs prooxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants...), soit d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène.

2.2.3. Conséquences du stress oxydant :

Elles sont extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire : un léger stress augmente la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, un stress moyen facilite l'apoptose, alors qu'un de fort stress provoque une nécrose et enfin un stress violent désorganise la membrane entraînant des lyses immédiates. D'autres perturbations biologiques sont observées à la suite d'un stress oxydant : des lésions directes de molécules biologiques (Lésions de l'ADN (fig6), des protéines, des lipides, des glucides), baisse de la fluidité des membranes, anomalies de récepteurs, diminution de la sensibilité à l'insuline, perturbation de l'immunité cellulaire, fibrose, dépôts de lipides, affaiblissement musculaire, voire mort neuronale ou apparition de mutations (Favier, 2006).

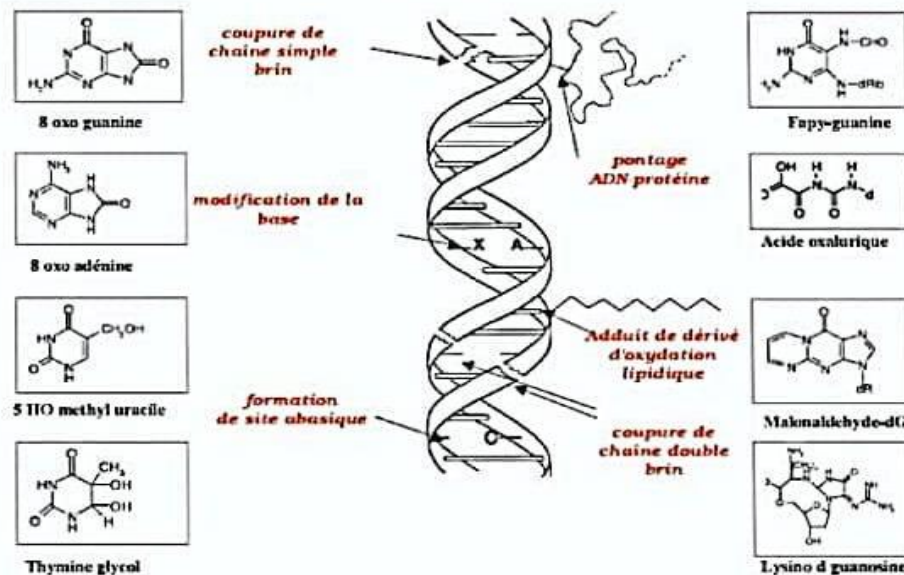


Figure 6: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

2.2.4. Maladies humaines liées à un stress oxydant :

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (tab 6) (Favier, 2006).

Tableau 6: Relations entre les maladies et le stress oxydant.

Maladies dues à une production insuffisante de radicaux libres	Maladies où le stress oxydant est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs	Maladies entraînant un stress oxydant secondaire
<ul style="list-style-type: none"> • Agranulomatose septique • Psoriasis 	<ul style="list-style-type: none"> • Cancers • Autoimmunité • Cataracte • Dégénérescence maculaire • Sclérose latérale amyotrophique • Photo-veillissement cutané • Photosensibilisation <ul style="list-style-type: none"> • Irradiation • Intoxications : CCl₄, Cd, Fe, alcool, • Hémochromatose 	<ul style="list-style-type: none"> • Maladie d'Alzheimer • Stérilités masculines • Maladies virales : EBV, HVB • Rhumatismes • Athérome • Asthme • Insuffisance respiratoire 	<ul style="list-style-type: none"> • Diabète • Insuffisance rénale • Mucoviscidose <ul style="list-style-type: none"> • Sida • Choc septique • Infarctus du myocarde <ul style="list-style-type: none"> • Ischémies/reperfusion <ul style="list-style-type: none"> • Parkinson • Brûlures • Thalassémie • Greffes d'organes Traitements : <ul style="list-style-type: none"> • Anticancéreux • PUVA thérapie • Oxygène hyperbare

2.3.Les antioxydants :

2.3.1.Définition :

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Boyd et al., 2003). Ce sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et

permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques (Favier, 2003).

Ce sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effets sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit (Kohen et Nyska, 2002).

2.3.2. Le système antioxydant :

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, d'autres proviennent de l'alimentation ou la médication et sont donc dits exogènes (Adimi, 2018).

2.3.2.1. Les antioxydants exogènes :

Apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque.

2.3.2.1.1. Vitamine C :

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une molécule hydrosoluble ayant à la fois un rôle prooxydant et antioxydant. Il est capable de réduire l'anion superoxyde ainsi que les radicaux hydroxyles et peroxydes (Wilson et salamatin, 2003) (fig7).

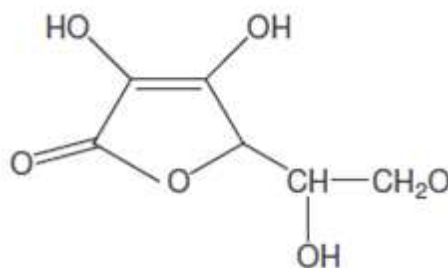


Figure 7: Structure chimique de l'acide ascorbique (Mohammedi, 2013).

2.3.2.1.2. Les polyphénols :

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux (Haleng et al., 2007)

Les composés phénoliques sont capables d'agir et contrôler les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène.

Les groupes hydroxyles des polyphénols sont des donneurs d'atomes d'hydrogène ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote (Letkessas et Adraa, 2017).

Les polyphénols comprennent une grande variété de molécules avec plusieurs groupes d'hydroxyles sur leurs cycles aromatiques. Ils sont divisés en plusieurs classes, en fonction du nombre de cycles phénoliques le degré de maturité qui contiennent et les éléments qui se lient à ces cycles on peut noter : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines (Luthria et al., 2006) (fig8).

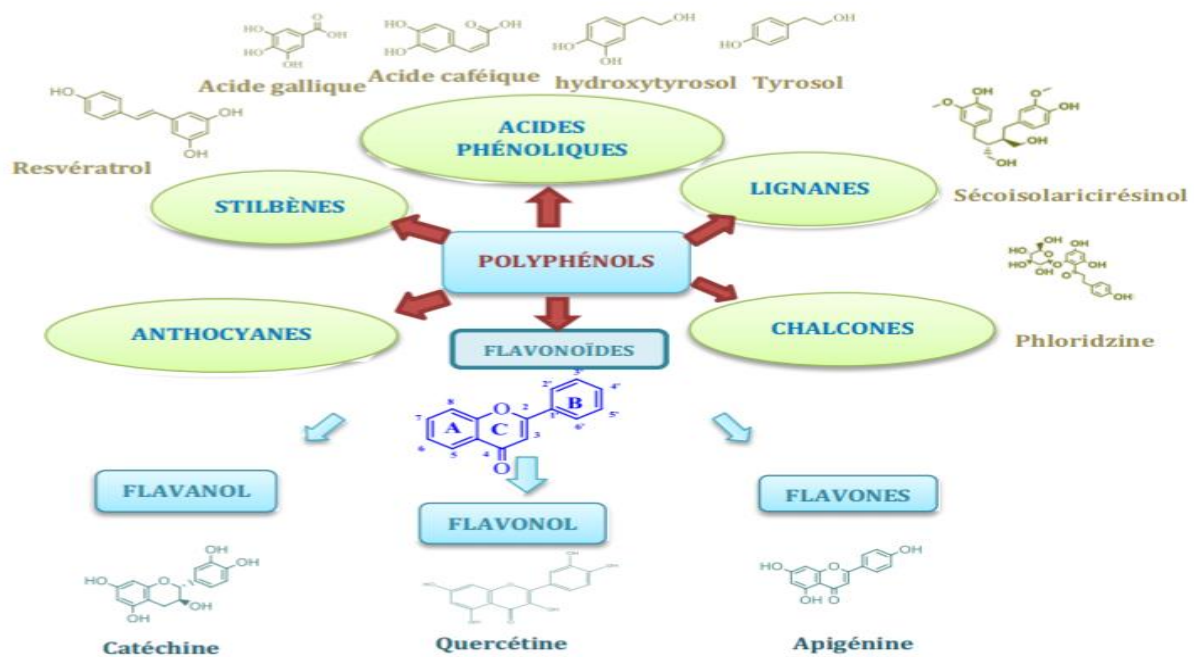


Figure 8: Classes des polyphénols (Losada-Barreiro et Bravo-Díaz, 2017).

2.3.2.2. Les antioxydants endogènes :

Se composent d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (**Haleng et al., 2007**).

Et on distingue deux types de systèmes :

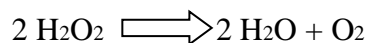
2.3.2.2.1. Le système endogène enzymatique :

Trois enzymes forment la clé de voûte de ce système antioxydant. Il s'agit de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT), et de la glutathion peroxydase (GPx) et des autres enzymes qui lui sont associées (**Wilson et salamatin, 2003**).

La catalase :

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales.

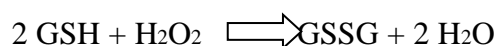
Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (**Thomas, 2016**) :



Glutathion peroxydases :

Les glutathion peroxydases sont localisées dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries.

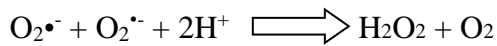
Elles permettent de réduire H_2O_2 en H_2O en parallèle de l'oxydation du glutathion (**Guillouty, 2016**) :



Superoxyde dismutases :

Les superoxydes dismutases sont des métalloenzymes (ce sont des enzymes utilisant des métaux comme cofacteurs). Il s'agit d'une des premières lignes de défense contre les ERO.

Leur cible privilégiée est l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) qu'elle transforme en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Guillouty, 2016) :

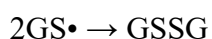
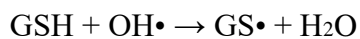


2.3.2.2.2. Le système endogène non enzymatique :

Ce système comprend plusieurs molécules, tels que l'acide urique le glutathion et les protéines de stockage des métaux de transition (ferritine, transferrine, lactoferrine et céruloplasmine) (Savini et al., 2013).

Glutathion :

Le glutathion est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine), qui joue un rôle important comme antioxydant endogène et dans le maintien de l'équilibre d'oxydo-réduction. En fait, le GSH participe à l'élimination du H_2O_2 et des LOOH, en servant de cosubstrat à l'enzyme GSH-Px (Seghaouil et Zermane, 2017). Le GSSG formé par cette première réaction est à nouveau réduit en GSH par la GSH réductase, une enzyme qui utilise le NADPH comme cofacteur. Le GSH peut inhiber la peroxydation des lipides et s'avère efficace comme piègeur direct de certains ERO, tels les radicaux OH^{\cdot} et l'oxygène singulet 1O_2 (Halliwell, 1996). Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire :



Acide urique :

Le tissu humain ne possède pas l'enzyme nécessaire à la dégradation de l'acide urique en allantoiné, c'est-à-dire l'urate oxydase: en conséquence, l'acide urique s'accumule comme produit final de catabolisme des purines, et est présent en quantité importante dans le plasma humain avant d'être éliminé par voie rénale. La perte de cette enzyme au cours de l'évolution pourrait avoir des effets bénéfiques puisqu'il a été démontré que l'acide urique possédait des

propriétés antioxydantes (**Lacolley et al, 2007**). A un pH physiologique l'acide urique est majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux ($\text{OH}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{NOO}\cdot$...) (**Haleng et al, 2007**).

2.3.2.3. Antioxydants synthétiques :

Les antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire sont :

Le butylhydroxyanisole (**BHA**), le butylhydroxytoluène (**BHT**), le gallate propylée (**PG**) et le tétrabutylhydroquinone (**TBHQ**). Ces produits sont moins efficaces et moins chers que les antioxydants naturels.

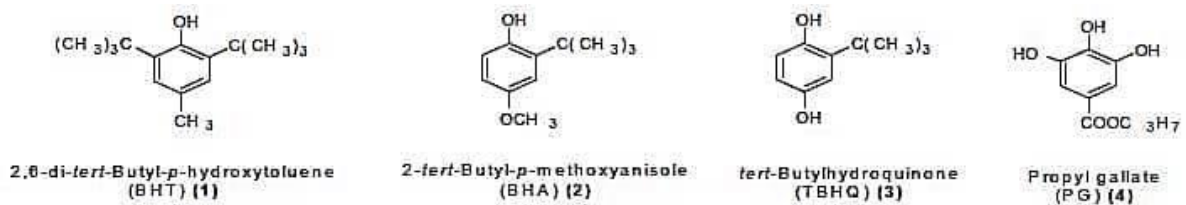


Figure 9: Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques (**El Kalamouni, 2010**).

2.4. Mécanisme d'action des antioxydants :

Les antioxydants agissent de différentes manières :

- Ils peuvent empêcher la formation directe des radicaux libres.
- Ils peuvent faire la liaison avec les radicaux libres et les détruire.
- Renforcer le système immunitaire de défense.
- Réparer les dommages résultants de radicaux libres.

(**Lamina et al., 2013**).

Chapitre 2 :

Etude

expérimentale

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Biochimie, Faculté des Sciences, Université 20 Août 1955 Skikda durant la période allant du 27 février au 9 avril 2022.

1. Matériel et méthode :

1.1. Matériel :

1.1.1. Matériel végétal :

Trois plantes ont été utilisées dans cette étude (*Lavandula stoechas*, *Mentha piperita L*, *Thymus hirtus*) pour l'évaluation de l'activité antioxydante, Les feuilles de ces trois plantes étudiées ont été récoltées en janvier 2022, de deux régions différentes de Skikda, Les feuilles de *Lavandula stoechas*, et de *Thymus hirtus* ont été récoltées à partir de la région les Frères Souissi (Zaouia) à Azzaba, sont identifier par Dr Sakhraoui Noura, Maître assistante au département de Biologie - Université de Skikda, alors que les feuilles *Mentha piperita L* ont été récoltées à partir de la région de Bekkouch Lakhder à Azzaba.

1.1.2. Matériel du laboratoire :

L'ensemble des matériels et des produits utilisés dans notre travail seront cités au fur et à mesure de leurs utilisations.

1.2. Méthodes :

1.2.1. Séchage et broyage :

Les feuilles récoltées ont été séchées à l'ombre à l'abri de la lumière, à température ambiante pendant 30 jours.

Après séchage, les feuilles ont été broyées pour obtenir une poudre fine, la poudre est conservée jusqu'à l'utilisation (fig10).

A/



B/



C/



Figure 10: photos originales présentant le séchage et le broyage des plantes étudiées.

A/Thymus hirtus, B/Lavandula stoechas, C/Mentha piperita L.

1.2.2.Extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes :

Les composés phénoliques et flavonoïdes ont été extraits à partir des feuilles de ces plantes par deux méthodes différentes : Extraction par macération dans l'éthanol aqueux, extraction par macération dans l'eau distillée, extraction par infusion.

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement bouillant que l'on laisse refroidir. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes, le thé par exemple.

La macération est une méthode d'extraction liquide-solide similaire à l'infusion qui s'effectue à température ambiante. Elle est généralement utilisée pour l'extraction de composés sensibles à la chaleur (Muanda, 2010).

1/Macération solide liquide dans l'éthanol :

Dans un bécher 10 g de la poudre végétale sont mélangés avec 100 ml d'éthanol puis on laisse le tout sur un agitateur pendant 1 heure à l'obscurité. Le tout est par la suite filtré par papier Wattman. Le filtrat est récupéré dans un flacon puis séché dans l'étuve à 30°C.

Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

2/Macération solide liquide dans l'eau distillée :

Dans un bécher 10 g de la poudre sont mélangés avec 100 ml d'eau puis on laisse le tout sur un agitateur pendant 1 heure à l'obscurité. Le tout est par la suite filtré par papier Wattman. Le filtrat est récupéré dans un flacon puis séché dans l'étuve à 30°C.

Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

3/L'infusion :

A 30g de poudre de chaque plante, sont ajoutés 200ml d'eau distillée bouillant, laissé infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps, après filtrer, puis sécher dans l'étuve à 30 °C.

Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

1.2.3. Détermination du Rendements des extraits secs :

Le rendement indique la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le pourcentage des extraits (éthanolique, aqueux, et de l'infusion) a été déterminé par la formule suivante :

$$R(\%) = M/M_0 \times 100$$

- R (%) : Rendement exprimé en %.
- M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traité.

1.2.4. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux :

1.2.4.1. Dosages des composés phénoliques :

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des plantes a été déterminé par la méthode de **Wong et al., (2006)**. Utilisant le réactif de Folin Ciocalteu.

Mode opératoire :

Un volume de 1000 µl pour chaque extrait (0.1g d'extrait sec dilué dans 10ml éthanol) est introduits dans des tubes à essai et mélanger avec 0.1ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Les tubes sont agités et conservés durant 1 min à la température ambiante. Après 1 min 1ml de carbonate de sodium (Na₂CO₃) est ajouté. Les tubes sont agités et conservés durant 2heures à la température ambiante et à l'obscurité. Après l'absorbance est ensuite mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm.

Courbe d'étalonnage :

La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mgEAG/g ES).

1.2.4.2. Dosages des flavonoïdes totaux :

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) cité par **Djeridane et al., (2006)** est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

Mode opératoire :

Brièvement 1 ml de chaque extrait (0.1g d'extrait sec dissous dans 10ml éthanol) a été ajouté à 0.1ml de solution d' AlCl_3 . Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 415 nm est mesurée après 30 minutes d'incubation.

Courbe d'étalonnage :

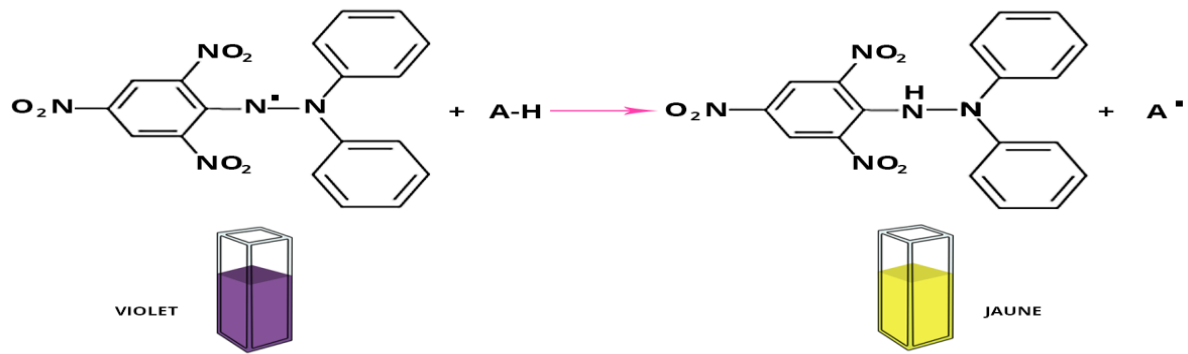
La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES).

1.2.5.Evaluation de l'activité antioxydante :

1.2.5.1.Test de piégeage du radical libre DPPH :

Principe :

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (**Brand et al., 1995**) (fig11).



Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

Diphenylpicrylhydrazine (non radical)

Figure 11: La forme réduite et non réduite de la molécule du DPPH (Molyneux, 2004).

Protocole expérimental :

- Solution de DPPH, préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol
- Dans des tubes d'essais stériles, on a introduit à partir d'extrait de chaque plantes (l'extrait éthanolique, aqueux et l'extrait de l'infusion) respectivement (0.2mg/ml, 0.4mg/ml, 0.6mg/ml, 0.8mg/ml, 1mg/ml).
 - On ajoute (0.8mL, 0.6mL, 0.4mL, 0.6mL ,0mL) méthanol respectivement dans les tubes.
 - Puis 0.1 ml de solution DPPH est ajoutées dans chaque tube.
 - On laisse incuber pendant 30 minutes à température ambiante et l'abri de la lumière.
 - La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde de 517nm par spectrophotomètre (tab7).

Tableau 7: les concentrations des extraits de plantes et leurs additifs en méthanol et solution DPPH.

les concentrations des extraits de plantes (mg/ml)	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Volume du méthanol (ml)	0.8	0.6	0.4	0.2	0
Volume de solution DPPH (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

-La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = \frac{(\text{abs témoin} - \text{Abs d'échantillon})}{\text{Abs témoin}} \times 100$$

- Abs témoin: absorbance du témoin.
- Abs d'échantillon: absorbance d'échantillon.

Calcul des IC50 :

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (**Attou, 2011**).

Le protocole d'extraction est résumé dans le schéma ci-dessous (fig12).

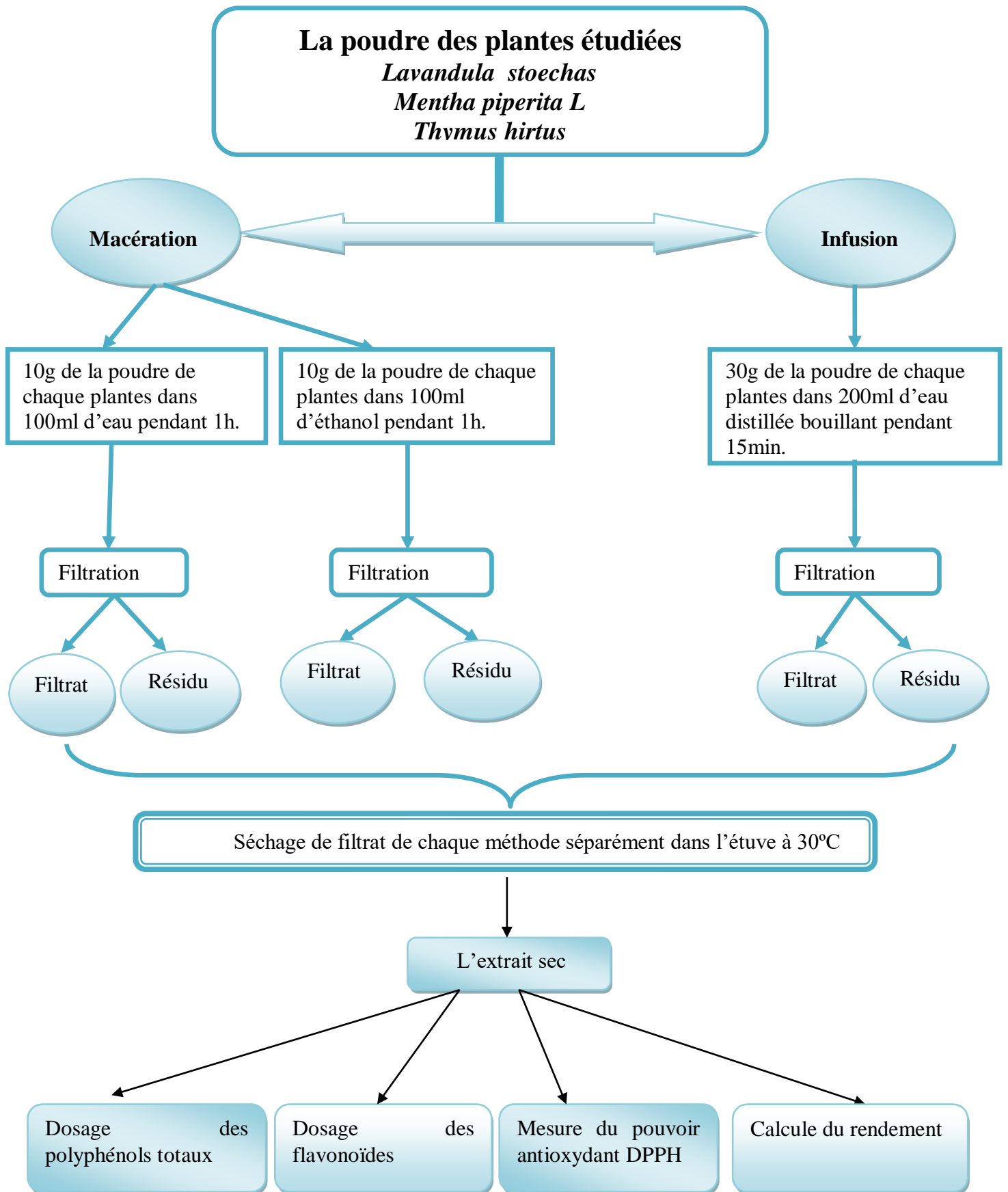


Figure 12: Le protocole d'extraction utilisé dans laboratoire.

2. Résultats et Discussion :

Les résultats sont la moyenne de trois essais \pm Ecart type.

2.1. Etude comparative des techniques d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes :

Dans ce travail, nous avons utilisé deux méthodes d'extraction : Extraction par macération dans l'éthanol aqueux, extraction par macération dans l'eau distillée, extraction par infusion. Au total, nous avons obtenu neuf extraits secs avec lesquels les différents tests ont été effectués. L'étude comparative de ces trois méthodes d'extraction a porté sur: Le rendement d'extraction, le dosage quantitatif des composés phénoliques et flavonoïdes totaux et l'évaluation de l'activité antioxydante de ces extraits.

2.1.1. Rendement en extrait sec :

Le tableau 8 indique les rendements obtenus pour chaque extrait de plante.

Tableau 8: Rendements d'extraction des extraits obtenus à partir des feuilles de *Lavandula stoechas* et *Mentha piperita L* et *Thymus hirtus* à différents modes d'extraction.

Plantes	Rendement d'extraction (%)		
	Par macération dans l'eau distillée	Par macération dans l'éthanol aqueux	Par infusion
<i>Lavandula stoechas</i>	7 \pm 0.057	9 \pm 0.115	10 \pm 0.127
<i>Mentha piperita L</i>	8 \pm 0.058	21 \pm 0.069	25 \pm 0.115
<i>Thymus hirtus</i>	7,1 \pm 0.115	20 \pm 0.173	22 \pm 0.231

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que :

- Pour l'infusion le rendement le plus élevé a été obtenu par *Mentha piperita L* (25% \pm 0.115) suivie par le *Thymus hirtus* (22%) et enfin *Lavandula stoechas* avec 10%. Nous remarquons que l'infusion donne un meilleur rendement pour les trois plantes.

- Le rendement de l'extraction avec macération dans l'éthanol aqueux donne des résultats supérieurs à ceux obtenus par macération dans l'eau distillée pour les trois plantes. En effet, on constate que pour *Mentha piperita L*, *Thymus hirtus* et *Lavandula stoechas*, l'extraction par macération dans l'éthanol donne un rendement supérieur à celui de la macération dans l'eau distillée avec respectivement 21%, 20% et 9% contre respectivement 8%, 7.1% et 7%, ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'une ou de plusieurs molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (Seid et al., 2014).

-Le rendement dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Quy Diem Do et al., 2014).

Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (Békro et al., 2007 ; Kebièche et al., 2011).

Dans notre cas, où les résultats du rendement de l'infusion donnent de meilleurs résultats que la macération cela peut être dû à l'augmentation de la température qui favorise l'extraction, car elle permet de réduire la viscosité du solvant, en améliorant la pénétration du solvant dans la matrice végétale, et augmente la solubilité des composés, et rendus les parois cellulaires plus perméables (Alessandro et al., 2012).

Il ya également le temps d'extraction qui pourrait avoir un impact sur le rendement d'extraction qui est d'une heure dans le cas de la macération et 15 min pour l'infusion. Selon Rhazi (2015) l'augmentation du temps d'extraction peut diminuer le rendement de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols.

En comparant les résultats obtenus avec d'autres travaux qui ont été réalisés dans ce contexte :

Les résultats de Chouiha et Houacine (2018) donne un rendement de 16.82% pour la macération éthanolique de *Thymus hirtus* et une autre étude réalisée par Yakhlef (2010) sur l'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris* issus d'extractions de 200g donne un rendement de 6.24% sont inférieures de la nôtre (20%).

Le rendement d'extraits aqueuse de *Thymus numidicus* issus des extractions de 25g (10.4%) obtenus par **Zeghib (2013)** et l'extrait Aqueuse de *Thymus vulgaris* (20.05%) reporté par **Yakhlef (2010)** plus grand que notre extrait aqueux de *Thymus hirtus* (7.1%), le rendement a été remarquablement faible comparé à celui enregistré par **Ramchoun et al., (2012)** en enregistrant des rendements de l'ordre 10, 7.60, 7.60 et 14.80% pour les extraits aqueux respectivement de *Thymus satureioides*, *Thymus zygis L.*, *Thymus atlanticus* et *Thymus vulgaris* du Maroc.

Notre résultat du rendement d'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* (9%) été supérieure au résultat de **Bouhrab et al., (2014)**, où l'auteur a travaillé sur les feuilles sèches (100g) de *Lavandula stoechas* et il a trouvé des rendements en extrait éthanolique qui égalent à 2,78%, mais il est similaire au rendement d'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas* (9,78%) trouvé par **Balouiri (2011)**.

Le rendement d'extrait de décoction des fleurs de *Lavandula stoechas* obtenus par **Ameur et Dechoucha (2018)** concordent avec ceux que nous avons enregistrés (10%) dans l'infusion et supérieure à ceux que nous avons obtenus par macération éthanolique et aqueuse (9%,7% respectivement).

Les rendements d'extrait méthanolique obtenus par macération de la plante *Mentha rotundifolia* (16.05%) trouvée par **Ferdjioui (2018)** et de l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium* (4,50%) enregistré par **Bouttine (2018)** sont inférieurs à ceux de notre extrait éthanolique de *Mentha piperita L* (21%).

2.1.2. Teneur en composés phénoliques :

Après le dosage, la teneur en polyphénol est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (fig13) ayant l'équation : $Y = 0,3877x - 0,0282$, $R^2 = 0,9658$.

La quantité des polyphénols a été exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

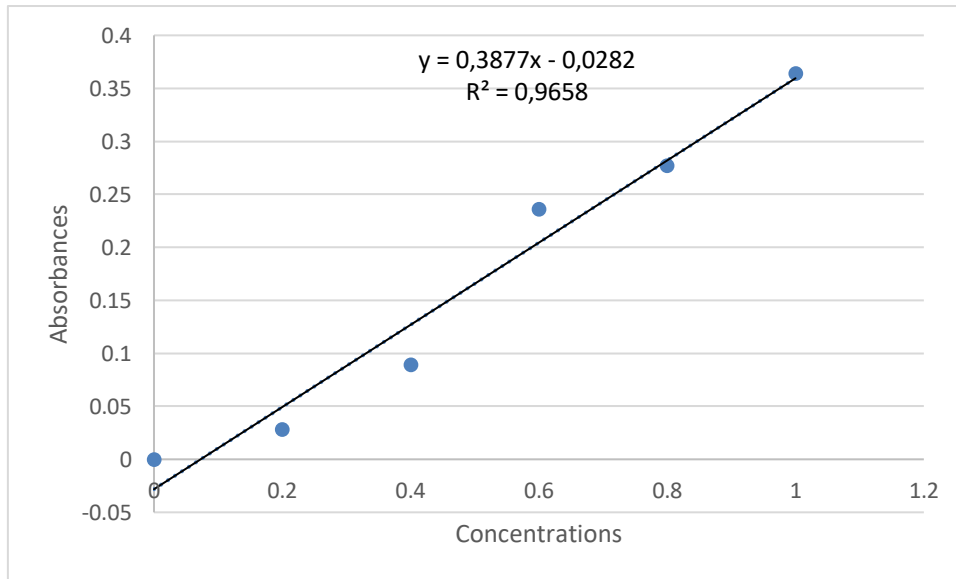


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

- ✓ Les résultats du dosage des teneurs en polyphénols des extraits obtenus par macération sont indiqués dans la figure 14 :

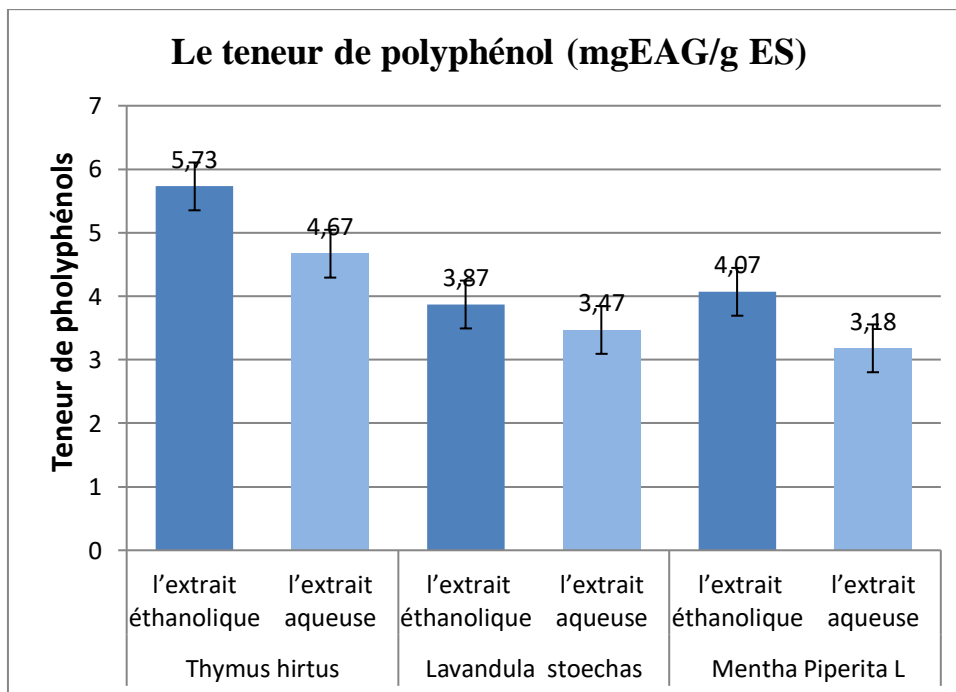


Figure 14: Teneur en polyphénols des extraits des trois plantes étudiées.

L'extrait éthanolique et aqueux de *Thymus hirtus* présentent les teneurs les plus élevées en polyphénols avec 5.73 ± 0.011 , 4.67 ± 0.006 mg EAG/g ES respectivement ce résultat confirme la grande richesse des feuilles de *Thymus hirtus* en substances polyphénoliques.

Les extraits éthanolique de *Mentha piperita L* et de *Lavandula stoechas* enregistrent des meilleurs résultats (4.07 ± 0.0173 mg EAG/g ES, 3.87 ± 0.046 mg EAG/g ES respectivement) que ceux enregistrés dans l'extrait aqueux avec 3.18 ± 0.015 mg EAG/g ES, 3.47 ± 0.023 mg EAG/g ES respectivement.

L'anova montre qu'il y a des différences très hautement significatives entre les plantes et aussi entre les solvants.

- ✓ Et pour l'infusion les résultats du dosage des teneurs en polyphénols des extraits obtenus sont indiqués dans le tableau ci-dessous (tab 9)

Tableau 9 : Les résultats du dosage des teneurs en polyphénols des extraits obtenus par infusion.

La plante	<i>Thymus hirtus</i>	<i>Lavandula stoechas</i>	<i>Mentha piperita L</i>
Le teneur de polyphénol (mg EAG/g ES)	4.9 ± 0.002	7.32 ± 0.004	5.72 ± 0.003

-*Lavandula stoechas* présente la teneur la plus élevée en polyphénols avec 7.32 ± 0.004 mg EAG/g ES, suivi par *Mentha piperita L* avec 5.72 ± 0.001 mg EAG/g ES, et enfin *Thymus hirtus* avec 4.9 ± 0.003 mg EAG/g ES.

En comparant les résultats obtenus avec d'autres travaux qui ont été réalisés dans ce contexte, on constate que, dans une étude réalisée par **Gülçin et al., (2004)** sur l'espèce de *Lavandula stoechas* originaire de Turquie, les teneurs des polyphénols des extraits aqueux et éthanolique est respectivement 153 et 226 μ g EAG/g de matière sec. Pour l'extrait infusé de *Lavandula stoechas* des teneurs de $14 \pm 0,54$ μ g EAG/g MS ont trouvées par **Ameur et Dechoucha (2018)**. Ces résultats sont nettement inférieurs aux les résultats enregistrés pour nos extraits éthanolique, aqueux et infusé de *Lavandula stoechas*.

Les résultats obtenus dans notre travail sur l'extrait éthanolique de *Thymus hirtus* sont inférieures à ceux mentionnés dans les travaux de **Zeghad (2009)**, qui a enregistré des teneurs de 09.07 mg EAG /g E d'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris*. De plus, nos résultats pour l'extrait aqueux de *Thymus hirtus* sont inférieurs aux valeurs rapportées par **Abderrahim (2021)** sur l'extrait aqueux de *Thymus pallidus* de avec 233.8 ± 4.23 mg EAG/g ES.

Les résultats obtenus pour l'extrait éthanolique de *Mentha piperita L* sont inférieures à ceux obtenus par **Bencheikh (2012)** réalisés sur l'extrait méthanolique de *Mentha pulegium* qui sont de l'ordre de 183,45 mg EAG/g ES.

Par ailleurs, si on compare nos résultats à ceux obtenus par **Khadraoui et al., (2015)**, qui ont travaillé sur l'extrait d'acétate d'éthyle de *Mentha pulegium* de la région de Tarik Ibn Ziad de Ain-Defla, et qui ont relevé des teneurs de l'ordre de 0,277 et 0,061 mg EAG/g ES, valeurs très inférieures à nos résultats pour les trois extraits de *Mentha piperita L* (l'extrait éthanolique, aqueux et infusé).

Ces différences sont probablement dues à plusieurs facteurs, notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, la méthode d'extraction (toutes les études avec lesquelles nous avons comparé nos résultats ont utilisé des protocoles différents du nôtre).

2.1.3. Teneurs en flavonoïdes :

Après le dosage, la teneur en flavonoïdes est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine (fig 15) ayant l'équation : $Y = 0.5281x + 0.0191$, $R^2 = 0,9886$.

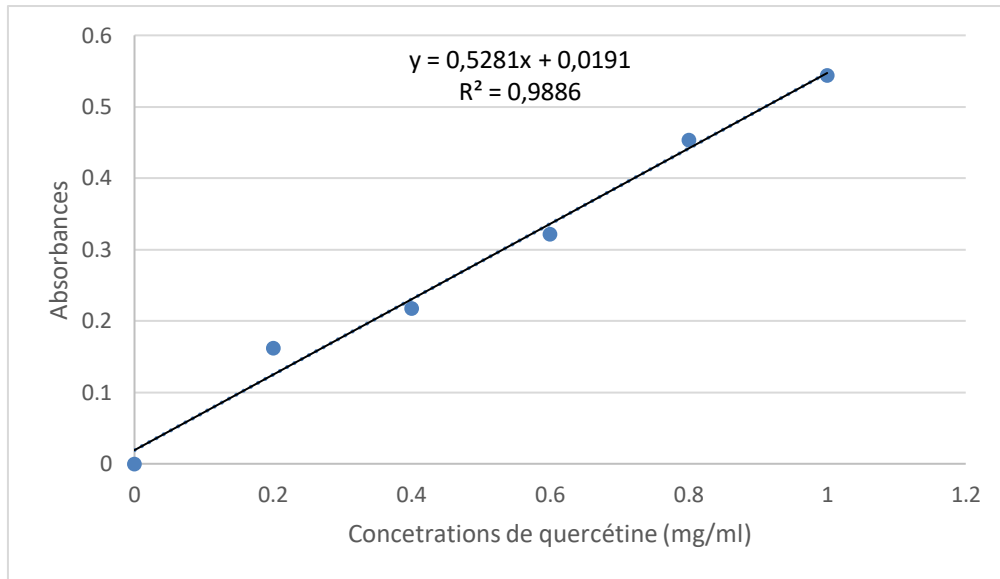


Figure 15: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

La quantité des flavonoïdes a été exprimée en microgrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES).

Les résultats du dosage des teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus par macération sont indiqués dans la figure 16 :

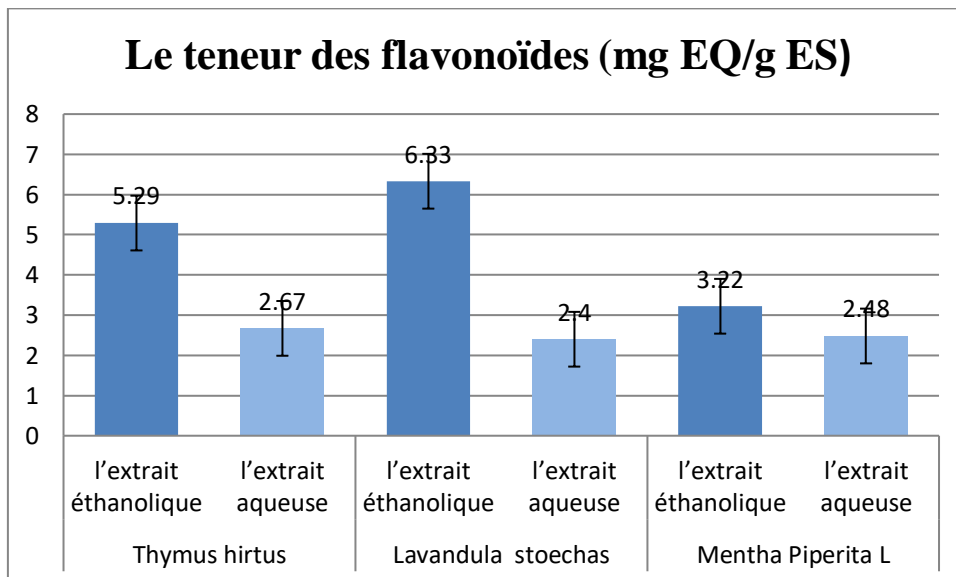


Figure 16 : Teneur en flavonoïdes des extraits des plantes.

Les teneurs en flavonoïdes des extraits aqueux de *Thymus hirtus*, *Mentha piperita L*, *Lavandula stoechas* sont respectivement $2.67 \pm 0,006$ et $2.48 \pm 0,023$ et 2.4 ± 0.01 mg EQ/g ES. Valeurs relativement faibles par rapport aux extraits éthanoliques 5.29 ± 0.011 et 3.22 ± 0.017 et 6.33 ± 0.01 mg EQ/g ES, respectivement.

L'anova montre qu'il y a des différences très hautement significatives entre les plantes et aussi entre les solvants.

Les résultats du dosage des teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus par infusion sont indiqués dans le tableau ci-dessous (tab10)

Tableau 10: Les résultats du dosage des teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus par infusion.

La plante	<i>Thymus hirtus</i>	<i>Lavandula stoechas</i>	<i>Mentha piperita L</i>
Le teneur des flavonoïdes (mg EQ/g ES)	3.63 ± 0.015	5.73 ± 0.014	3.45 ± 0.012

Les résultats obtenus montrent que l'extrait infusé de *Lavandula stoechas* représente la teneur en flavonoïdes la plus élevée avec (5.73 ± 0.014 mg EQ/g ES), suivi par l'extrait infusé de *Thymus hirtus* (3.63 ± 0.015 mg EQ/g ES), tandis que l'extrait infusé de *Mentha piperita L* représente l'extrait avec la plus faible teneur en flavonoïdes avec (3.45 ± 0.012 mg EQ/g ES).

Dans une étude réalisée par **Gülçin et al., (2004)** sur l'espèce *Lavandula stoechas* originaire de Turquie, des résultats inférieurs ont été trouvés. En effet les teneurs des flavonoïdes des extraits aqueux et éthanolique est respectivement 10 et 22 µgEQ/g de matière.

Pour la teneur en flavonoïdes d'extrait éthanolique de *Thymus hirtus*, **Zeghad (2009)** ont trouvé une valeur supérieure à la nôtre, soit 8.56 mg QE /g d'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris*.

D'un autre côté, nos résultats pour l'extrait aqueux du *Thymus hirtus* sont supérieurs à ceux trouvés par **Yekhlef (2009)**, qui ont enregistré des teneurs de 1.20 mg QE /g d'extrait aqueux de *Thymus vulgaris*.

Le résultat trouvé par **Bouttine (2018)** dans l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium* (12,07 mgEQ/gE) est supérieur à notre résultat pour l'extrait de *Mentha piperita L.*

-Les résultats obtenus par macération et infusion nous indiquent clairement la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes dans les extraits des trois plantes quel que soit le mode d'extraction.

-D'après nos résultats, nous remarquons que l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes par macération dans l'éthanol donne des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes supérieures à celle obtenus par la macération dans l'eau distillée dans les trois plantes.

Il paraît clairement que l'éthanol est le solvant qui permet d'avoir un rendement en polyphénols totaux et en flavonoïdes plus élevé.

L'éthanol est un solvant polaire permettant d'extraire les composés polaires ainsi que les composés de moyenne et de faible polarité. L'aptitude de l'éthanol à augmenter la perméabilité des parois cellulaires facilite l'extraction d'un plus grand nombre de composés. (**Seidel, 2005**).

-L'extraction par infusion dans les trois plantes présente des teneurs en polyphénols et des flavonoïdes supérieures à celles obtenus par macération dans l'éthanol et dans l'eau distillée cela pourrait être dû à la lyse cellulaire et la libération de la plupart des molécules de polyphénols et flavonoïdes dans l'eau chaude.

2.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante des trois plantes :

L'activité antioxydante des différents extraits des trois plantes a été mesurée en utilisant la méthode de DPPH, à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 517 nm.

Les valeurs de l'activité antiradicalaire (%) de chaque extrait obtenue à partir du taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations de l'extrait.

Pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, les résultats sont exprimés en termes d'IC50 exprimant la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire dans le milieu réactionnel. Cette dernière a été calculée à partir des courbes des pourcentages d'inhibition obtenus en fonction de différentes concentrations d'extraits utilisés. L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydante requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Ismaili et al., 2017).

Les résultats des IC50 des extraits des feuilles des trois plantes sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11: les concentration IC50 des extraits des feuilles des trois plantes.

Les plantes	<i>Thymus hirtus</i>		<i>Lavandula stoechas</i>		<i>Mentha piperita L</i>	
	Ethanol	eau distillée	éthanol	eau distillée	éthanol	eau distillée
IC50 des extraits de macération (mg/ml)	0.22±0.012	0.92±0.015	0.24±0.016	1.84±0.045	0.5±0.02	1.02±0.064
IC50 des extraits de l'infusion (mg/ml)	0.64±0.025		0.45±0.035		0.87±0.036	

À des fins comparatives, le BHA et BHT (BHA: hydroxyanisole butylé, BHT: butylhydroxy toluène) sont utilisés comme antioxydants de référence, connu pour leur puissant pouvoir

antioxydant avec une forte activité antiradicalaire avec une IC50 de l'ordre de (0.09 mg/ml; 0.1 mg/ml) respectivement.

Au regard des résultats obtenus, il en ressort que les extraits des trois plantes étudiées s'avèrent moins actifs que les antioxydants standard (BHA et BHT).

-L'extrait éthanolique de *Thymus hirtus* représente l'extrait le plus actif avec une IC50 = 0.22 ± 0.012 mg/ml, ce qui pourrait être lié à sa forte teneur en composés phénoliques par rapport aux autres plantes, et l'extrait aqueux de *Thymus hirtus* représente une IC50 = 0.92 ± 0.015 mg/ml.

L'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas* présente une meilleure activité que l'extrait aqueux de la même plante avec une IC50 de l'ordre de 0.24 ± 0.016 , 1.84 ± 0.045 mg/ml respectivement.

L'extrait éthanolique de *Mentha piperita L* manifeste aussi une bonne activité en comparaison avec l'extrait aqueux de la même plante avec une IC50 de l'ordre de 0.5 ± 0.015 , 1.02 ± 0.064 mg/ml respectivement.

-À partir de nos résultats de l'infusion, on observe que l'extrait de *Lavandula stoechas* enregistre une activité antioxydante élevée par rapport aux autres échantillons étudiés avec une IC50 de 0.45 ± 0.035 mg/ml, ensuite l'extrait de *Thymus hirtus* avec une IC50 = 0.64 ± 0.025 mg/ml et enfin l'extrait de *Mentha piperita L* avec une IC50 = 0.87 ± 0.036 mg/ml.

Au regard des résultats obtenus, il en ressort que les extraits infusés des trois plantes étudiées s'avèrent moins actifs que les antioxydants standard (BHA et BHT dont les IC50 sont de l'ordre de 0.09 mg/ml; 0.1 mg/ml).

Les résultats que nous avons enregistrés pour l'activité anti-radicalaire des extraits de *Lavandula stoechas* sont inférieurs à ceux mentionnés dans le travail de **Ameur et Dechoucha (2018)** qui a trouvé une valeur d'IC50 égale à $44 \mu\text{g/ml} \pm 1,52$ pour l'extrait éthanolique de la même plante.

Notre extrait éthanolique du *Lavandula stoechas* présente une bonne activité anti-radicalaire par rapport à l'extrait butanolique du *Lavandula antineae* trouvée par **Boulegroun et Ardjoun (2019)** avec une IC50 égale $0,43 \pm 0,002$ mg/ml.

En comparant nos résultats de *Mentha piperita L.*, les extraits éthanolique, aqueux et infusé possèdent une activité antioxydante supérieure à celle étudiée par **Bouttine (2018)** qui a trouvé une valeur d'IC50 égale 1.47 mg/ml l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium*.

De plus, l'activité anti-radicalaire de notre extrait éthanolique de *Thymus hirtus* est supérieure à celle mentionnée dans le travail de **Boulegroun et Ardjoun (2019)** avec une IC50 $=0,63 \pm 0,01$ mg/ml pour l'espèce *Thymus algeriensis*, et proche de l'activité anti-radicalaire présentée par **Bakchiche et Gherib (2014)** avec une IC50 $= 0.235 \pm 0.018$ mg/ml pour l'extrait éthanolique de *Thymus algeriensis*.

De même, l'étude menée par **Tefiani et al., (2015)** a aussi révélé une faible efficacité des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* avec une IC50 de l'ordre de 0.4447 ± 0.0139 mg/ml en comparaison avec nos extrait éthanolique de *Thymus hirtus*.

Cette différence d'activité anti-radicalaire peut être due aux teneurs en polyphénols et flavonoïdes des différentes plantes.



Conclusion

et

perspectives

La découverte de ressources naturelles du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques.

Dans le présent travail, nous avons essayé d'évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles de trois plantes aromatiques *Thymus hirtus*, *Lavandula stoechas*, *Mentha piperita L* de la flore algérienne.

Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par le test de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une activité acceptable, donc ces plantes contiennent des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires...

De nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- ✧ Evaluation de l'activité antioxydante *in vivo* sur un modèle biologique.
- ✧ Réalisation d'une étude biochimique sur d'autres parties de ces plantes (ex: racines, tiges, fleurs).
- ✧ Approfondir les recherches afin de caractériser des composés autres que les polyphénols qui peuvent avoir d'autres activités et donc d'autres effets thérapeutiques.
- ✧ Développer des médicaments anti-radicalaires à base de ces plantes, doués d'une activité anti-oxydante

Les références

bibliographique

- **Abderrahim B., (2021)**, Etude phytochimique et activitésantioxydante et hépatoprotectrice des extraits de *Thymus pallidus*, Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas Sétif, Alger, 122 p.
- **Adjimani J.P., Asare P., (2015)**, Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. Toxicology Reports, Université de Volta Road , Ghana, pp:2, 721-728.
- **Adimi L. Z., (2018)**, Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale: la mélisse (*Melissa officinalis*), Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas Sétif, Alger, 158p.
- **Aftab siddiqui M., Khalid M., Akhtar M., Sddiqui H., Farogh A., Mauzzamkhan M., Ahmed M., Asad A., (2016)**, *Lavandula stoechas*, Ustukhudduus, Amiracleplant. Journal of innovations in pharmaceuticals and biological science, pp:3(1), 96-102.
- **Alessandro L.G., Kriaa K., Nikov I., Dimitrov K., (2012)**, Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. Separation and purification technology, Thèse de doctorat, Université Lille Nord de France, Paris, pp:93, 42-47.
- **Ameur I., Dechoucha S., (2018)**, Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des plantes Lavandula stoechas et Curcuma longa, Mémoire de magister, Université de Msila, Alger, 33p.
- **Attou A., (2011)**, Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent, Mémoire de magister, Université Abou bekr belkaid Tlemcen, Alger, pp:47- 48.
- **Bakchiche B., Gherib A., (2014)**. Antioxidant activities of polyphenols extracted from medicinal plants of the traditional pharmacopoeia of Algeria, Mémoire de magister, Université de Biskra, Alger, pp:(9) , 167-172.
- **Balouiri M., (2011)**, Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de plantes médicinales et aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques- Taounate. Mémoire de magister , Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Alger, 101p.
- **Bencheikh D., (2012)**, Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium L* And *Matricaria camomilla L*, Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas, Alger, 55p.
- **Bendif H., (2017)**, Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques lamiaceae: *ajuga iva* (l.) schreb.,

- teucrium polium* L., *thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (boiss. & reut.) greuter & burdet et *rosmarinus eriocalyx* jord & fourr. Thèse de doctorat, Ecole normale supérieure de kouba, Alger, 154 p.
- **Békro Y.A., Janat A., Békro M., Boua B.B., Trabi F.H., Éhilé E., (2007),** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthamiana* (baill.) herend et zarucchi (caesalpinaceae). Sciences et nature, Université d'Abobo-Adjamé, Côte d'Ivoire, pp:217–225.
 - **Bouhrab J., Appl. Biosci, (2014),** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, Thèse de doctorat, Université Moulay Ismail, Maroc, pp:78,6685-6693.
 - **Boulegroun A., Ardjoun R., (2019),** Evaluation de l'effet antioxydant de deux plantes endémiques en Algérie: *Thymus algeriensis* de Ain-Defla et *Lavandula antineae* de Biskra, mémoire de magister, université de Biskra, Alger, 40p.
 - **Bousta D., Farah A., (2020),** A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L, *Clinical Phytoscience*, pp:6(1), 1-9.
 - **Bouttine I., Benterrouche I.E., (2018),** Constituants bioactifs et activités biologiques de *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*, Thèse de doctorat, Université de Jijel, Alger, 154p.
 - **Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnelley S., McAnelley C., (2003),** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé : *GlycoScience et Nutrition*, p:4(6),7.
 - **Brand william W., Cuvelier M.E., Berset C., (1995),** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, pp:28,25-30.
 - **Bruneton J., (1999),** Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes médicinales 3ème Ed Techniques et documentations, Paris, pp:227-310-312-313-314.494.
 - **Carrasco A., Ortiz Ruiz V., Gutierrez Ramiro M., Tomas C., Tudela J., (2015).** *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography– mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities .*ELSEVIER*, pp:73,16-27.
 - **Charles D.J., (2013),** Saffron. In antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springer science and Business Media; 612p.

- **Chouiha O., Houacine A., (2018)**, Contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des deux plantes médicinales: *Thymus hirtus* et *Rosmarinus tournefortii*, Thèse de doctorat, université de Djelfa, Alger, 144p.
- **Devasagayam T.P.A., Tilak J.C., Boloor K.K., Sane K.S., Ghaskadbi S.S., Lele, R.D., (2004)**, Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. Japi, pp:52(794-804), 4.
- **Ekoh S., Akubugwo E., Chibueze Ude V., Edwin N., (2014)**, Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effect of spices (*Thymus vulgaris*, *Murraya koenigii*, *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense*) in alloxan-induced diabetic rats. Int. J. Biosci, pp: 4 (2), 179–187.
- **El Kalamouni C., (2010)**, Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées , Thèse de doctorat , Université de Toulouse, France, 211p
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., (2008)**, Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. Organs, and their biological activities. Compte Rendu de Biologie, Université de Tunis, pp: 331, 372-379.
- **Favier A., (2003)**, Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- **Favier A., (2006)**, Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- **Ferdjioui S., (2018)**, Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*, Thèse de doctorat, université de Sétif, Alger, 186p.
- **Goetz P., Ghedira K., (2012)**, Phytothérapie anti-infectieuse. Paris : Springer,
- **Guillouty, A., (2016)**. *Plantes médicinales et antioxydants*, Thèse de doctorat , Université Toulouse III-Paul Sabatier, 79p.
- **Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R., (2005)**, Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*; pp:554-558.
- **Gülçin İ., Şat İ.G., Beydemir Ş., Elmastaş M., Küfrevioğlu Ö.İ., (2004)**, Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food chemistry*, pp:87(3), 393-400.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P., (2007)**, Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, pp62(10), 628-38.

- **Halliwell B., Gutteridge J.M.C., (2007)**, Free Radicals in biology and medicine, 4ème ED Oxford University Press, New York, 851p.
- **Hosseinzadeh S., Kukhdan A., Hosseini A., Armand R., (2015)**., The application of *Thymus vulgaris* in traditional and modern medicine: a review. Glob. J. Pharmacol. pp: 9 (3), 260–266.
- **Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A., Chailan C., (2016)**, Le marché des plantes aromatiques et médicinales: Analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie,
- **Ilboudo O., Bonzo S., Tapsoba I., Somda I., & Bonzi Coulibaly L., (2016)**, In vitro antifungal activity of flavonoid diglycosides of *Mentha piperita* and their oxime derivatives against two cereals fungi. Comptes Rendus Chimie, pp:19(7), 857-862.
- **Ismaili R., Houbairi S., Lanouari S., Moustaid K., Lamiri A., (2017)**, Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines , pp:(13) ,1857-7431.
- **Kalembe D., Synowiec A., (2019)**, Agrobiological interactions of essential oils of two menthol mints: *Mentha piperita* and *Mentha arvensis*. *Molecules*, pp:25(1), 59.
- **Kayode J., Ogunleye T., (2008)**, Checklist and status of plant species used as spices in kaduna state of Nigeria. Afr. J. Gen. Agric, pp: 4 (1), 13–18.
- **Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R. (2011)**, Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*. pp:9, 274-282.
- **Khadraoui A., Hachama K., Khodja M., Khelifa A., Mehdaoui A., Harti H., Abid S., Agnieszka Najda B., Chahboun N., (2015)**, Extraction study and the antibacterial activity of phenol and flavonoid contents in *Mentha pulegium* L. from Algeria, pp:6 (9), 2501-2508.
- **Kohen R., Nyska A., (2002)**, Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification , *Toxicol Pathol* , Vol 30 (6), pp: 620-50.
- **King A., Young G., (1999)**, Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Jof the American dietetic association*, pp: 99, 213-218.
- **Lacolley P., Babuty D., Boulanger C., Ghaleh B., Loirand G., Pinet F., Samuel J.L., (2007)**, Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. Ed John Libbey Eurotext, Paris, pp: 312 , 316 , 317.

-
- **Lamina S., Ezema C.I., Theresa A.I., Anthonia E.U., (2013)**, Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, Vol 2(2), pp: 83-91.
- **Letkessas H., Adraa I., (2017)**, Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de *CeratoniasiliquaL*, mémoire de master en biochimie moléculaire et santé, Université des Frères Mentouri, Constantine , pp:21,27-28,33,37.
- **Libman A., Bouamanivong S., Southavong B., Sydara K., Soejarto D., (2005)**, Medicinal plants: An important asset to health care in a region of central Laos. *Journal of Ethnopharmacology*, pp:4128, 1-9.
- **Losada Barreiro S., Bravo Díaz C., (2017)**, Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, pp :133, 379-402.
- **Lugasi A., Hovari J., Sagi K., Biro L., (2003)**, The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta biologica. Szegediensis*, pp:47 (1-4), 119-125.
- **Luthria D.L., Mukhopadhyay S., Krizek D.T., (2006)**, Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of food composition and analysis*, pp:19(8), 771-777.
- **Miliauskas G., Venskutonis P.R., Van Beek T.A., (2004.)**, Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract, *Food chemistry*, pp: 85, 231- 237.
- **Mohammedi Z., (2005)**, Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Mémoire de Magister, Université de Tlemcen, Alger, 55p.
- **Mohammedi Z., Atik F., (2012)**, Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. Thèse de doctorat, Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, Algérie, 39p.
- **Mohammedi Z., (2013)**, Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat , Université Abou Bekr Belkaid, Algérie, 47p
- **Morale R., (2002)**, The history, botany and taxonomy of the genre *Thymus* in Thyme. Ed Taylor, 12p.

- **Molinyeux P., (2004)**, The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity ,Sciences Technology, pp:26(2), 211-219.
- **Muanda F.N., (2010)**, Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques, Université de Paul Verlaine-Metz,238p.
- **Nkouaya Mbanjo E., Tchoumboungang M., Jazet Dongmo P., Sameza M., Amvam Zollo P., Menut C., (2007)**, Mosquito larvicidal activity of essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Thymus vulgaris* grown in Cameroon. *Planta Med*, pp: 73 (9), 329.
- **Podsedek A., (2007)**, Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Food Science and Technology*, pp: 40,1-11.
- **Quezel P., Santa S., (1963)**,Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome II.
- **Quy Diem Do., Angkawijaya A.E., Tran Nguyen P.L., Huynh L.H., Soetaredjo F.E., Ismadji S., JuY H., (2014)**,Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, pp:22(3), 296-302.
- **Ramchoun M., Harnafi H., Alem C., Büchele B., Simmet T., Rouis M., Atmani F., Amrani S., (2012)**, Hypolipidemic and antioxidant effect of polyphenol-rich extracts from Moroccan *Thyme varieties*, Thèse de doctorat, Université de Maroc, pp:7,119-124.
- **Reddy P., Kandisa R., Varsha P., Satyam S., (2014)**, Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties, Thèse de doctorat, Université de Mahatma Gandhi, India, pp:3, 164.
- **Rhazi N., (2015)**, Mise au point de mélanges collants écologiques à partir des écorces d'Acacia mollissima du Maroc ,Thèse de doctorat, université de Maroc, 65p.
- **Savini I., Catani M.V., Evangelista D., Gasperi V., Avigliano L., (2013)**, Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state, Thèse de doctorat, Université de Roma, pp:14(5), 10497-10538.
- **Schmitz P., (2015)**, *Thymus vulgaris*. Available from: http://ecoport.org/ep?Plant=2441&entityType=PLCR**&entityDisplay Category=full.
- **Singh R., Shushni M.A., Belkheir A., (2015)**, Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita L*, *Arabian Journal of Chemistry*, pp:8(3), 322-328.

- **Stahl Biskup E., Saez F., (2002)**, Thyme—The Genus *Thymus*. Taylor and Francis, London.
- **Stahl Biskup E., Venskutonis R.P., (2012)**, 27—Thyme. In: Peter, K.V. (Ed.), Handbook of Herbs and Spices. second ed. Woodhead Publishing, Abington, Cambridge, UK, pp:499–525.
- **Stargrove M.B., Treasure J., Mckee D.L., (2008)**, Herb, Nutrient and Drug interaction: Clinical Implication ad Therapeutic Strategies, ED Mosby Elsevier, 733p.
- **Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., Mathé G. (2002)**, Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? Biomed.pharmacother. pp:56, 200-207.
- **Tefiani C., Riazi A., Youcefi F., Aazza S., Gago C., Faleiro M.L., Miguel M.G., (2015)**, *Ammoides pusilla* (Apiaceae) and *Thymus munbyanus* (Lamiaceae) from Algeria essential oils: Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antiproliferative activities, pp:27(2), 131-139.
- **Thomas D., (2016)**, Les antioxydants de nos jours: définition et application , Thèse de doctorat , Université de limoges, France, 36p.
- **Wilson A., Salamatian L., (2003)**, Les Radicaux Libres: Une question d'équilibre. Université de Saint-Quentin-en-Yvelines DESS IST 2002-2003.
- **Yakhlef G., (2010)**, Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris L.* et *Laurus nobilis L.* , Mémoire de magister, Université de Batna 2, Alger, 58p.
- **Zeghad N., (2009)**, Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique , *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* et évaluation de leur activité antibactérienne, université Mentouri , Constantine, Alger, 147p.
- **Zeghib A., (2013)**. Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*, thèse doctorat, université de Constantine 1, Alger, 275p.