

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE
N° :



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : BIOLOGIE
OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par : BEN LATRECHE AMAL
AIT KACI ARAB BAYA

Intitulé

**Etude de l'activité antioxydante des extraits des
feuilles de *Thymus vulgaris***

Soutenu devant le jury composé de :

Mr. HARRAR Abdenassar	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
Dr. BENSLAMA Abderrahim	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur
Dr. Rahali Abdallah	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2020 /2021

DEDICACE

Je dédie Ce modeste travail :

A mes chers parents pour leur bonté par excellence, qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, de tendresse, d'amour et de force.

A toutes ma famille.

A mes chers frères : Hicham, Iyad, Amin.

A mon encadreur Mr. HARRAR Abdenassar pour ses conseils, aides.

A mon binôme Baya et toute sa famille.

A tous mes maîtres et enseignants de l'école à l'université.

A toute la promotion Biochimie appliquée 2021.

AMAL

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A mon support dans ma vie, qui m'a appris à supporter et m'a été l'ami et m'a dirigée vers la gloire mon père

A la personne la plus chère à mes yeux à ma mère qui a tout sacrifié pour moi

A mon soutien moral et source de joie et de bonheur, mon fiancée Arezki pour l'encouragement et l'aide qu'il m'a toujours accordés et toute sa famille

A ma petite sœur douce Inès

A ma chère grande sœur Thiziri

A mon petit frère Yanis

A tous mes amis, particulièrement : Imen, Hassna et Salma

A mon binôme Amal pour sa patience avec moi et toute sa famille

A toute ma famille

A toutes les personnes que je connais et que je n'ai pas citées

BAYA

REMERCIEMENTS

- ✓ *Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et le tout miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*
- ✓ *En second lieu, nous tenons à exprimer nous sincères remerciements à notre promoteur Mr. HARRAR Abdenassar pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines. Pour tout cela, je tiens à lui exprimer toute ma gratitude. Pour ces encouragements et surtout pour la grande patience qu'il a manifestée, pour ces précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.*
- ✓ *Nos vifs remerciements vont également adressés aux membres du jury Dr. BENSLAMA Abderrahim et Dr. Rahali Abdallah pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*
- ✓ *Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants impliqués dans notre formation durant les 5 années des études.*
- ✓ *Nous voudrions également exprimer toute nous gratitude et nous remerciements aux ingénieurs du laboratoire.*
- ✓ *Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Sommaire

Résumé.....	i
Liste des abréviations.....	ii
Liste des figures.....	iii
Liste des tableaux.....	iv
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Propriétés biologiques de *Thymus vulgaris*

1. Propriété botanique.....	2
1.1. Généralités.....	2
1.2. Nomenclature.....	2
1.3. Description botanique.....	3
1.4. Répartition géographique.....	3
1.4.1. Dans le monde.....	3
1.5. Classification.....	4
1.6. Exigence écologique et habitat.....	4
2. Utilisation en médecine traditionnelle.....	5
3. Utilisation culinaire et agroalimentaire.....	5
4. Composition chimique.....	5
5. Activité pharmacologique.....	6

Chapitre II : Stress oxydant

1. Stress oxydant.....	8
1.1. Définition.....	8
1.2. Les radicaux libres.....	8
2. Les antioxydants.....	10
2.1. Classification des antioxydants.....	10
2.2. Mécanismes d'action des antioxydants.....	12
2.3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	13

3.	L'origine du stress oxydatif.....	13
4.	Les maladies liées au stress oxydatif.....	14
5.	Conséquences moléculaires du stress oxydatif	14
5.1.	Les dommages oxydatifs à l'ADN	14
5.2.	Les dommages oxydatifs aux Lipides	14
5.3.	Les dommages oxydatifs aux protéines	15

Partie Expérimentale

Chapitre III : MATERIEL ET METHODES

1.	Matériel	16
1.1.	Matériel végétal.....	16
1.2.	Appareillage	16
1.3.	Réactifs.....	16
2.	Méthodes d'analyses	16
2.1.	Préparation des extraits	16
2.2.	Analyse chimique	17
2.3.	Activité antioxydante	19
2.4.	Analyse statistique.....	20

Chapitre VI : Résultats et discussion

1.	Résultats et discussion.....	21
1.1.	Extraction et rendement	21
1.2.	Composition chimique	22
1.3.	L'activité antioxydante et antiradicalaire	27
	Conclusion.....	30
	Références bibliographiques	31

ملخص

تنتمي نبتة *Thymus vulgaris* الى عائلة *Lamiaceés* وهي نبتة طبية واسعة الإستعمال في الطب التقليدي في الجزائر. قدر مردود الإستخلاص بالنقع في الميثانول والغليان في الماء للاوراق ب % 5 و 15.5 % (ك/ك) على التوالي. قدرت عديدات الفينول الكلية في هذه المستخلصات بإستعمال متفاعل Folin-Ciocalteu حيث وجد 106.5 و 77.41 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص لكل من EMet و EAq على الترتيب. في حين وجدت الفلافونويدات الكلية والمقدرة بطريقة $AlCl_3$ 146.4 و 28.61 ميكروغرام مكافئ الكرسيتين/ملغ من المستخلص لكل من EMet و EAq على الترتيب. و قدر محتوى الفلافونولات والفلافونات ب 6328، 153.2 ميكروغرام مكافئ الكرسيتين/ ملغ بالنسبة لنفس المستخلصات على الترتيب. تقييم نشاط المضاد للأكسدة عن طريق تجربة النشاط المضاد للجزر الحر DPPH والمعبرة عن النشاط المضاد لهذا الأخير 21.93، 111.07 و 89.73 ميكروغرام/مل بالنسبة ل BHT، EMet و EAq على التوالي. هذه النشاطية المضادة للأكسدة تم تأكيدها بإختبار القدرة الإرجاعية.

الكلمات المفتاحية : *Thymus vulgaris*، عديدات الفينول، الفلافونويدات، النشاطية المضادة للاكسدة ، DPPH.

Abstract

Thymus vulgaris a shrub which belongs to the *Lamiaceés* family. It's a medicinal plant largely used in Algerian traditional medicine. The leaves of the plant were subjected to maceration in methanol (EMet) and by a decoction in distilled water (EAq). The yields were 5% et 15.5 % (w/w) for EMet and EAq respectively. Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent and found to be 106.5 ± 4.796 (EMet) and $77,41 \pm 7.27$ (EAq) μg gallic acid equivalent/ mg of extract. Flavonoids were evaluated by AlCl_3 method and shown to be 146.4 ± 2.26 (EMet) and 61.28 ± 1.583 (EAq) μg quercetin equivalent / mg of extract. The flavones and flavonols were evaluated by AlCl_3 method and shown to be 328.6 ± 12.37 (EMet) and 153.2 ± 1.872 (EAq) μg quercetin equivalent / mg of extract. Antioxidant activity was carried out by the method of radical trapping DPPH^{*}, The 50 percent inhibitory concentration for DPPH. (IC_{50}) were $21,93 \pm 0.21$ (BHT), 111.07 ± 3.52 (EMet) and 89.73 ± 3.11 (EAq) $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Key words: *Thymus vulgaris*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH.

Résumé

Thymus vulgaris est une plante qui appartient à la famille des *Lamiaceés*. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Les feuilles de la plante ont été soumises à une macération dans le méthanol (EMet) et à une décoction dans l'eau distillée (EAQ). Les rendements étaient de 5% et 15.5 % (m/m) pour EMet et EAQ respectivement. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de 106.5 ± 4.796 (EMet) et $77,41 \pm 7.27$ (EAQ) μg équivalent d'acide gallique/ mg d'extrait. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium AlCl_3 , la teneur est estimée à 146.4 ± 2.260 (EMet), et 61.28 ± 1.583 (EAQ) μg équivalent quercétine / mg d'extrait. Les flavones et flavonols ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium AlCl_3 , la teneur est estimée à 328.6 ± 12.37 (EMet), et 153.2 ± 1.872 (EAQ) μg équivalent quercétine / mg d'extrait. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de piégeage du radical DPPH $^{\bullet}$, les concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}) sont estimées à $21,93 \pm 0.21$ (BHT), 111.07 ± 3.52 (EMet) et 89.73 ± 3.11 (EAQ) $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH.

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

ANOVA : Analyse de variance.

BHT : Butylhydroxytoluene.

DO : Densité optique.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAG : Equivalent en acide gallique.

EAQ : Extrait aqueux.

EMeOH : Extrait méthanolique.

EQ : Equivalent en quercétine.

ERO : Espèces réactifs de l'oxygène.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 %.

M/M : Masse par masse.

R (%) : Rendement.

R² : Coefficient de corrélation.

UV : Ultraviolet.

Liste des figures

Figure 1 : Aspect Morphologique de <i>Thymus vulgaris</i>	2
Figure 2 : Partie utilisé de thym	3
Figure 3 : Les processus de formation des ERO	9
Figure 4 : Schéma des molécules intervenant dans les protections cellulaires	11
Figure 5 : Différentes sources d'antioxydants	11
Figure 6 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et les antioxydants	13
Figure 7 : Principales sources des radicaux libres.....	14
Figure 8 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.....	19
Figure 9 : Histogramme du rendement de l'extraction.	21
Figure 10 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	23
Figure 11 : Histogramme de la teneur en polyphénols des deux extraits.....	24
Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.....	24
Figure 13 : Histogramme de la teneur en flavonoïdes des deux extraits.....	25
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavones et flavonols.....	26
Figure 15 : Histogramme de la teneur en flavones et flavonols des deux extraits	26

Liste des tableaux

Tableau I : Teneur en polyphénols dans l'infusion aqueuse du <i>Thymus vulgaris</i>	6
Tableau II : Résultats et rendement d'extraction des deux extraits.....	21
Tableau III : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des deux extraits.	25
Tableau IV : Pouvoir antiradicalaire des deux extraits des feuilles de <i>T. vulgaris</i>	29

INTRODUCTION

Introduction

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés. Ces propriétés dépendent de la présence d'agents bioactifs variés (P. Maihebiau, 1994).

Les plantes ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines grâce à leurs richesses en composants de valeur thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. Il existe plusieurs groupes de métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et coumarines).

Un stress oxydant se définira lorsqu'il y aura un déséquilibre profond entre antioxydants et prooxydants en faveur de ces derniers (Favier, 2003). Donc En situation physiologique, il y a un équilibre parfait entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les systèmes de défenses antioxydants. L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin., 2001).

Notre étude consiste à l'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait de la plante *Thymus vulgaris*, qui appartient à la famille des *Lamiacées*. La sélection de cette plante est pressée par le fait qu'elle est parmi les plantes médicinales les plus populaires utilisées dans le monde entier, Ces plantes médicinales plus intéressantes dans le domaine de médecine traditionnelle.

Le but de notre étude est la quantification des composés phénoliques (phénols, flavonoïdes), Notre travail est organisé en deux parties, La première partie de ce travail présente une revue bibliographie sur le *Thymus vulgaris*, le stress oxydatif et les composés phénoliques, La deuxième partie est concerné pour la partie expérimentale, décrit les différentes méthodes d'extraction ; les protocoles expérimentaux des dosages utilisés et les tests de l'activité antioxydante. Ainsi que les différents résultats et leurs discussions. Et en fin, on termine par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Propriété botanique

1.1. Généralités

Selon la pharmacopée, une plante médicinale est définie comme une drogue végétale. Il s'agit de plantes contenant une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou comme précurseurs dans la fabrication de drogues utiles (Chabrier, 2010). Autrement dit, on appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. A cause de leurs propriétés préventives ou curatives elles sont présentées à l'égard des maladies humaines ou animales (Chabrier, 2010).

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Le nom *Thymus* (Fig.1) dérive du mot grec *thymos* qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001).



Figure 1 : Aspect Morphologique de *Thymus vulgaris* (Iserin, 2001)

1.2. Nomenclature

Les noms vernaculaires de l'espèce *Thymus vulgaris* sont les suivants, en arabe : saatar et zaatar. En français : thym vulgaire, thym de jardins, farigoule, farigoule et barigoule. En allemand: Thymian, Echter Thymian, Garten thymian, RÖmischer thymian, romischer quendel, welscher thymian kutteelkraut. En anglais : common thym, garden thym (Teuscher et al, 2005). Plusieurs dénominations ont été données aux espèces du genre *Thymus* ; en Amazigh : Azukni, Tazuknite, en Arabe : Ziiitra (Stahl-Biskup et Saez, 2002).

1.3. Description botanique

Les plantes du genre *Thymus* sont des arbustes perpétuels herbacés avec des racines ligneuses, elles peuvent atteindre une hauteur de 45 cm (2 pieds). Les tiges sont verticales, les branches sont persistantes, les feuilles sont aromatiques et recouvertes de glandes et les fleurs sont colorées avec une couleur violette pâle à deux lèvres avec un calice glandulaire (Charles, 2012).

Thymus vulgaris est une plante aromatique, peu élevée, très ramifiée, à tige ligneuse, sous ligneuse ou herbacée. Feuilles opposées, persistantes ou semi persistantes petites, entières, de forme variable. Fleurs pourpres rosées ou blanches, petites, disposées en têtes globuleuses ou en épis au sommet des rameaux (Fig.2). Calice tubuleux en forme de cloche, bilabié la lèvre supérieure à trois dents, l'inférieure à deux lobes en alène ciliée ; corolle bilabiée, la lèvre supérieure dressée, l'inférieure, étalée à trois lobes (le médian plus grand), quatre étamines saillantes. Carpelles lisse, ovoïdes (Spichiger *et al.* 2004).



Figure 2 : Partie utilisé de thym (Iserin, 2001).

1.4. Répartition géographique

1.4.1. Dans le monde

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (Mabberley, 1997). Il est très répandu dans le nord-ouest africain Maroc, Tunisie, Algérie et Libye, les

montagnes d’Ethiopie et d’Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries, Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie, en Europe nordique jusqu’aux bords du Groenland (Morales, 1997). La région de l’ouest méditerranéen est considérée comme étant le centre de l’origine du genre *Thymus* ; l’espèce *T. vulgaris* provient particulièrement du sud de l’Europe, de l’Espagne à l’Italie (Morales, 1997 ; Peter, 2004). Le thym est maintenant très cultivé au Portugal, France, Allemagne, Espagne, Italie, Algérie, Maroc, Tunisie, Egypte, Turquie, Chine, Russie et les Etats-Unis d’Amérique (Wilson, 2002 ; Raghavan, 2006).

1.4.2. En Algérie

L’Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales à cause de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thymus comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu’aux zones arides (Nickavar et al ,2005). Le thym est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l’Atlas saharien, et du Constantinois à l’Oranais (Kabouche *et al* 2005).

1.5. Classification

Selon Quézel et Santa, (1963) la classification botanique de *Thymus vulgaris*, est la suivante :

- Règne : *Plantae*
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Embranchement : *Magnoliophyta*
- Sous-embranchement : *Magnoliophytina*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Asteridae*
- Ordre : *Lamiales*
- Famille : *Lamiaceae*
- Genre : *Thymus*
- Espèce : *Thymus vulgaris*

1.6. Exigence écologique et habitat

Les espèces de Thym sont plus efficaces dans les sols grossiers et rugueux. Il est très important que les sols soient légers et bien drainés avec un pH de 5 à 8. Bien que le Thym se

développe facilement, sur les sols calcaires secs et pierreux, il peut être cultivé dans des sols humides et lourds, mais il devient moins aromatique. La période de végétation de cette plante est de 200 à 210 jours (Ghasemi Pirbalouti *et al.* 2015).

Le thym pousse bien sur des endroits naturels, sur sol légers et calcaires mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux mais non détrempés. Et Il nécessite des endroits bien la sécheresse. C'est d'ailleurs sur sols pauvres que se développe le mieux son arôme. Dans des endroits de fortes gelées, une protection est recommandée durant l'hiver sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalisé mi-avril ou plus rarement en août, en rangées encadrées environ 20 à 30 cm ; de préférence sur sol léger et sablonneux (Eberhard *et al.*, 2005).

2. Utilisation en médecine traditionnelle

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

Des études récentes ont montré que les espèces de *Thymus* ont de fortes pouvoirs antifongique, antiviral, antiparasitaire, spasmolytique et antioxydantes (Ghelichnia 2016).

Cette plante aromatique très odorante est considérée comme l'un des remèdes les plus efficaces contre le rhume, la grippe et l'angine, elle calme les toux quinteuses, et diminue les sécrétions nasales. Elle contribue aussi dans le traitement de l'hypertension et les problèmes intestinaux et en usage externe pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Mebarki, 2010). Ces plantes sont traditionnellement utilisées dans les remèdes naturels contre : l'asthme, l'ingestion, les maux de têtes et le rhumatisme (Jun *et al.*, 2001).

3. Utilisation culinaire et agroalimentaire

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

4. Composition chimique

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions

géographiques, climatiques, de séchages, de stockages, et des méthodes d'études (extraction et détection) (Amiot, 2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse a révélé, 30 composés dont les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4 – 58,1%), p-cymène (9,1 – 18,5%), γ -terpinène (6,9 – 18%), carvacrol (2,4 – 4,2%), linalol (4 – 6,2%). La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol.

Les flavonoïdes, les principaux flavonoïdes sont composés de flavones libres (notamment l'apigénine, la 6-hydroxylutéoline et la lutéoline), des flavanonols comme la taxifoline, des flavanones comme la naringénine, de nombreuses flavones méthoxylées (cirsilinéol, 8-méthoxycirsilinéol, cirsimarine, sacuranétine, salvgénine, sidéritoflavone, thymonine et thymusine).

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuse préparée du *Thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (Tab. I) (Kulišić *et al.*, 2006). Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (principes amers des lamiacées) (avec environ 4%) et l'acide rosmarinique (avec environ 0,8 à 2,6%), Dérivés de l'acétophénone : Constitués particulièrement 4-hydroxyacétophénone, des hétérosides estérifiés et des dérivés de l'acide benzoïque. Triterpènes : renfermant surtout de l'acide usolique (1,9%), acide oléanolique (0,6%) (Amiot, 2005).

Tableau I : Teneur en polyphénols dans l'infusion aqueuse du *Thymus vulgaris* (μg EAG/mg d'extrait) (Kulišić *et al.*, 2006).

Plante	Phénols totaux	Flavonoïdes	Non- flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines
<i>Thymus vulgaris</i>	33.3	25.0	8.3	1.2	6.7

5. Activité pharmacologique

Les espèces de plantes aromatiques du genre *Thymus* sont des plantes médicinales importantes, fortement recommandées en raison d'une gamme de propriétés thérapeutiques de leur huile essentielle (huile de Thym), anti hématologique, antiseptique, antispasmodique, antimicrobien (Rasooli *et al.*, 2006).

Propriétés antivirales, antifongiques, anti-inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de

Thymus vulgaris inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (Jiminez-Arellanes et al, 2006).

Assaisonnement des aliments et des boissons. Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures. Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides (Bazylko et Strzelecka, 2007).

1. Stress oxydant

1.1. Définition

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines : déficit nutritionnel en antioxydant, surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Fig. 3) (Favier, 2003).

1.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs couches périphériques, rendant ainsi ces espèces particulièrement instables (Durand *et al.*, 2013).

1.2.1. Rôles biologiques des radicaux libres

Les radicaux libres jouent des rôles essentiels dans le bon déroulement de la réaction immunitaire par l'activation de la NADPH oxydase, l'action des superoxydes dismutases (SOD) et la NO Synthase (NOS) qui aboutissent à l' $O^{\bullet-}$, H_2O_2 , HO^{\bullet} et autres radicaux libres. La présence de chlore donnera la naissance à l'acide hypochlorique HOCl, c'est l'oxydant microbicide le plus puissant dans la phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires. Les radicaux libres peuvent aussi agir en tant que molécules de signal et intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire et participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation (Favier A., 2003).

1.2.2. Origine des radicaux libres

Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production d'anions super oxydés se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Des sources importantes de radicaux libres sont les mécanismes de cycles redox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome P450.

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase.

2. Les antioxydants

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant (Meddour, 2001).

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003). On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule.

2.1. Classification des antioxydants

Les antioxydants sont un groupe hétérogène composé de systèmes antioxydants endogènes, enzymatiques ou non, de vitamines, d'oligo-éléments ou encore de polyphénols (Thomas, 2016).

Classiquement, on répertorie les antioxydants selon leur origine (Fig.5), les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des ERO alors que les antioxydants non enzymatiques et ceux d'origine exogène sont des donneurs de proton ou d'électron (Denys *et al.*, 2013).

2.1.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxydedismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) (Fig. 4) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge.

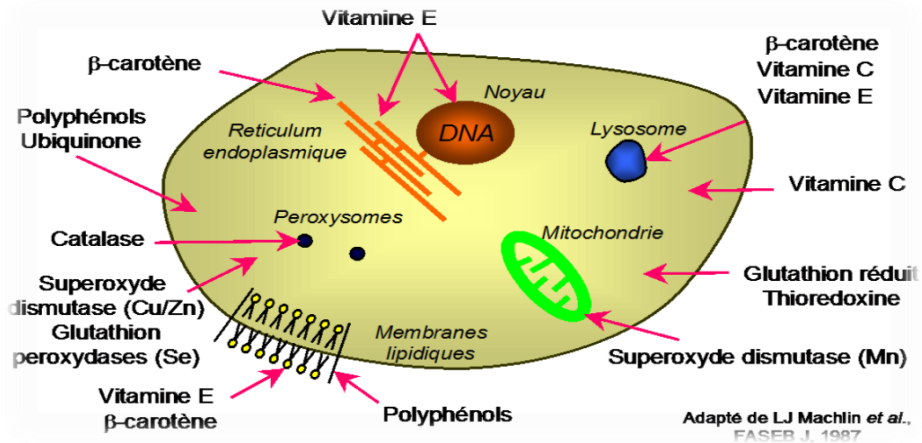


Figure 4 : Schéma des molécules intervenant dans les protections cellulaires (Moure *et al.*, 2001).

2.1.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydante. Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité (Fig. 5). Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Ryma, 2016).

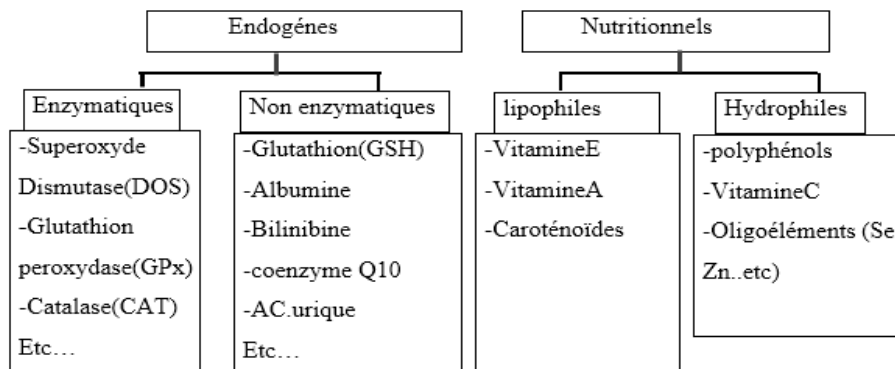


Figure 5 : Différentes sources d'antioxydants dont dispose l'organisme pour répondre aux situations de stress oxydant (Denys *et al.*, 2013).

2.1.2.1. Antioxydants naturels

2.1.2.1.1. Les oligo-éléments

Les oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse (Pastre, 2005).

2.1.2.1.2. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002). Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel, D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (Macheix *et al.*, 2005).

2.1.2.2. Les antioxydants synthétiques

Parmi les antioxydants synthétiques qui sont autorisés pour la conservation des produits alimentaires et pharmaceutiques : le butylhydroxytoluène (BHT), du butylhydroxyanisole (BHA). Ces deux additifs sont insolubles dans l'eau, résistants à la chaleur, mais ont une bonne solubilité dans les milieux lipidiques. Ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évaporent rapidement. Ils peuvent également causer des effets secondaires, comme prouvé par des études récentes. En particulier, le BHT, lorsqu'il est appliqué sur la peau, endommagerait les tissus pulmonaires. L'utilisation du BHT et le BHA sont actuellement remis en question pour raison toxicologique (Salvador & Chisvert, 2011).

2.1.2.2.1. Avantages et inconvénients des antioxydants de synthèse

Actuellement, l'emploi des molécules antioxydantes de synthèse est remis en cause en raison des risques toxicologiques potentiels et de cancérisation. L'utilisation de certaines d'entre elles est interdite, mais sont largement appliquées car peu coûteuses. Par contre, les antioxydants naturels sont aussi coûteux et limités, perçus comme des substances inoffensives, de large gamme de solubilité dans l'eau, d'intérêt croissant et complètement métabolisés et ils sont de forte activité antioxydante (Valenzuela *et al.*, 1996).

2.2. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Fig.6) (Favier,

2006). Les antioxydants peuvent aussi réparer les dommages causés par oxydation aux biomolécules ou peuvent influencer des enzymes qui catalysent les mécanismes de réparation (Donald *et al.*, 2015).

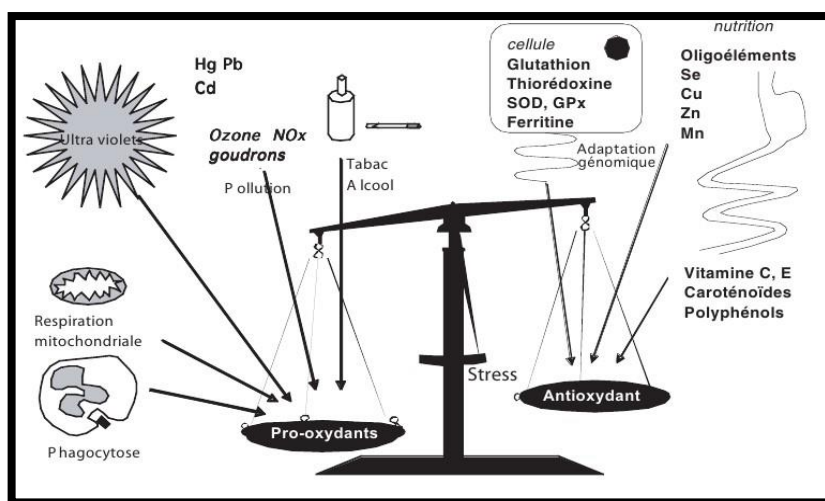


Figure 6 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro et les antioxydants (Favier A., 2006).

2.3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des substances naturelles, ces méthodes reposent essentiellement sur deux principes ; Le premier est associé avec la peroxydation lipidique, comme les tests de l'acide thiobarbiturique (TBA), du β -carotène et des diènes conjugués. La deuxième repose sur le transfert d'électrons ou de protons pour la neutralisation des radicaux ou de certains métaux, c'est le cas des tests du DPPH, ABTS, FRAP. En général, il est recommandé d'utiliser au moins trois méthodes pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon (Shibamoto, 2014).

3. L'origine du stress oxydatif

Le stress oxydant peut avoir diverses origines, tel que des facteurs environnementaux comme l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de médicaments, le contact avec des agents cancérigènes, la pollution, ou même des facteurs endogènes comme la chaîne de transport des électrons dans les mitochondries, les phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus et la mauvaise alimentation (Fig.7) (Thanan *et al.*, 2014).

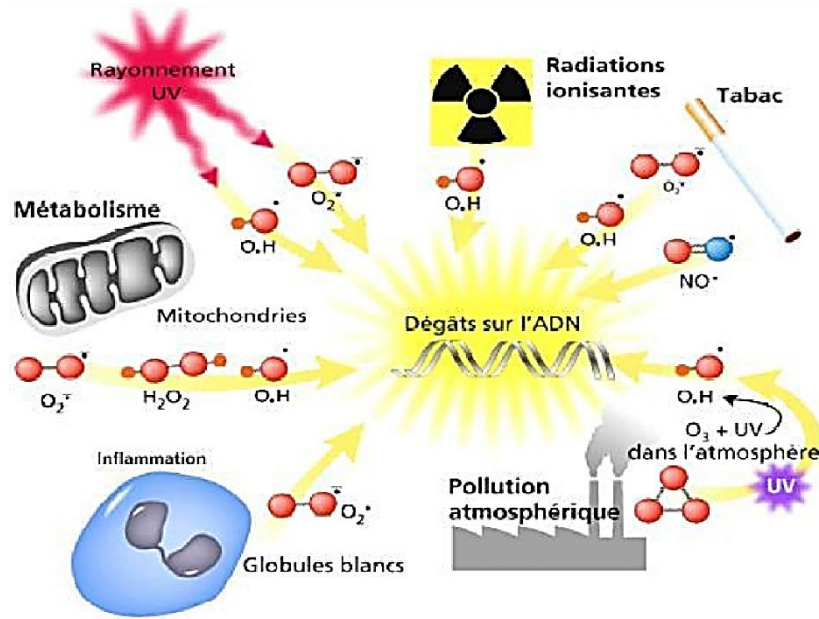


Figure 7 : Principales sources des radicaux libres (Pincimail *et al.*, 2012).

4. Les maladies liées au stress oxydatif

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

5. Conséquences moléculaires du stress oxydatif

5.1. Les dommages oxydatifs à l'ADN

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres. L'attaque de l'ADN va entraîner la modification des bases puriques et pyrimidiques où des cassures au niveau de la double hélice et des mutations ponctuelles, qui peuvent avoir de graves conséquences sur la synthèse des protéines et sur la transmission de l'intégrité du patrimoine génétique (Thanan *et al.*, 2014).

5.2. Les dommages oxydatifs aux Lipides

L'oxydation des lipides, notamment des acides gras polyinsaturés, induit une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. L'attaque

radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages qui transforment en cellules spumeuses, constituant une étape dans la formation de l'athérosclérose (Nakajima *et al.*, 2006).

5.3. Les dommages oxydatifs aux protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis des radicaux libres. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes. Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extracellulaire (Haleng *et al.*, 2007).

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel ou l'organe végétal choisi dans la présente étude est représenté par les feuilles (*Thymus vulgaris*) qui ont été achetées, sous forme séchée, chez un herboriste, dans la wilaya de M'sila, elles ont été récupérées dans un sac propre et à l'abri de la lumière pour servir ultérieurement à l'extraction.

1.2. Appareillage

Balance de précision, Rotavapeur, Spectrophotomètre, Etuve, Agitateur vortex.

1.3. Réactifs

Méthanol (CH₃-OH), Acide gallique, Carbonate de sodium (Na₂CO₃), Eau distillée (H₂O), Chlorure d'aluminium (AlCl₃), Solution de Folin-ciocalteu, DPPH, Quercétine et BHT.

2. Méthodes d'analyses

2.1. Préparation des extraits

Avant de commencer l'extraction, les feuilles sèches subissent un broyage à l'aide d'un broyeur électrique, jusqu'à obtention d'une poudre fine.

2.1.1. Extrait aqueux

L'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* a été obtenu par décoction de 20 g du broyat des feuilles dans 500 ml d'eau distillée pendant 10 min sous agitation magnétique. La solution est laissée reposer sur la plaque chauffante pendant 15 minutes. Le mélange est d'abord filtré à l'aide d'une gaze, puis subit une seconde filtration sous vide, grâce au papier Whatman (n°3) déposé sur un büchner. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à son utilisation ultérieure (Benslama *et al.*, 2017).

2.1.2. Extrait méthanolique

Une quantité de 50g de la poudre des feuilles de *Thymus vulgaris* préalablement broyée, est mise à macérer dans 200 ml de méthanol, à l'ombre et à la température ambiante pendant 24 heures, avec un maximum d'agitation. Ce mélange est d'abord filtré à l'aide d'une gaze, puis subit une seconde filtration sous vide, grâce au papier Whatman (n°3) déposé sur un büchner. Le méthanol est éliminé du filtrat à sec et sous vide au Rotavapeur à 40 - 50 °C. Le résidu obtenu est caractérisé par une couleur vert foncé, qui est considéré comme étant l'extrait brut. L'extrait sec est conservé au froid à 4 °C (Benslama *et al.*, 2017).

2.2. Analyse chimique

2.2.1. Détermination du rendement des extraits

Le rendement désigne 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 rendement a été calculé par la formule suivante :

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

Avec : M : la masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀ : la masse initiale en gramme des feuilles de de la plante

2.2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006).

2.2.2.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu qui est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolibdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) (Yakhlef *et al.*, 2011). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765 nm.

2.2.2.2. Protocole

Mettre 20 µl de chaque extrait de *T. vulgaris* dans des tubes à essais ; ajouter 1.58 ml d'eau distillée et 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans H₂O distillée (v/v) dans chaque tube ; agiter vigoureusement puis laisser agir 6 min avant d'ajouter 300 µl de carbonate de sodium à 7.5%. Après 2 heures d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 760 nm. Effectuer la même opération pour l'acide gallique à différentes concentrations en introduisant 20 µl de ces dernières dans une série de tubes et ajout des autres réactifs. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné du Folin-Ciocalteu, de l'eau distillée et de carbonate de sodium. Toutes les mesures sont réalisées en triplicata. Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits de *T. vulgaris* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique/ g de matière fraîche.

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0–160 µg/ml), comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les

résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

2.2.3. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans ces extraits.

2.2.3.1. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1972).

2.2.3.2. Protocol

La méthode du trichlorure d'aluminium citée par (Djeridane, *et al.*, 2006 ; Bahorun *et al.*, 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de *Thymus vulgaris*.

1 ml de chaque extrait (dissous dans le méthanol) a été ajouté à un volume égal d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2% ; Après 15 minutes de réaction, l'absorbance est lue à partir du spectrophotomètre UV-visible à 430 nm. Le blanc est représenté par le méthanol additionné à l' AlCl_3 .

La teneur des flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Thymus vulgaris* sont déduites à partir de l'équation de la gamme d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine à différentes concentrations comme standard dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en μg équivalent de quercétine / mg d'extrait (μg EQ/mg). Toutes les mesures ont été effectuées en triplicata afin de s'assurer de la reproductibilité des résultats.

2.2.4 Dosage des flavones et flavonols

La méthode utilisée pour l'estimation de taux de flavonols est celle décrite par (Kosalec *et al.*, 2004).

2.2.4.1. Protocole

Mettre 0.50 ml d'extrait de *T.vulgaris* dans un tube à essai ; ajouter 1.5 ml d'éthanol, 0.1 ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 10 % puis 0.1 ml d'acétate de sodium et 2.8 ml d'eau, laisser incuber 30 min à température ambiante.

Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 415 nm. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata. La concentration des flavones et flavonols contenus dans les extraits de *T. vulgaris* est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/ g de matière fraîche.

2.3. Activité antioxydante

2.3.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

2.3.1.1. Principe

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (Fig. 8). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Benslama et Harrar, 2016).

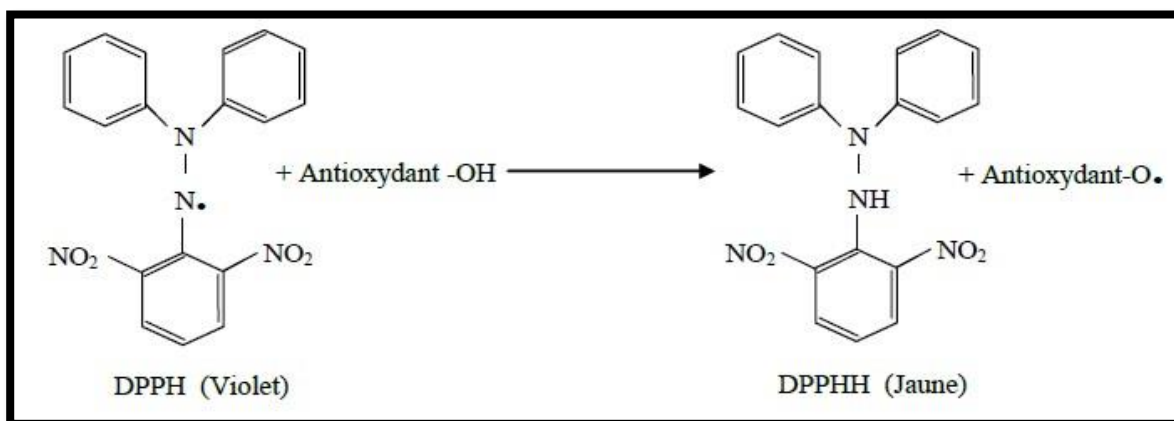


Figure 8 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant (Talbi *et al.* 2015).

2.3.1.2. Protocole

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par (Que *et al.*, 2006).

Un volume de 500 μ l de la solution de DPPH• (0.1mM) est ajouté à 500 μ l des solutions d'extraits ou standard (BHT) à différentes concentrations. En ce qui concerne le contrôle positif,

ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 500 µl d'éthanol avec 500 µl de la solution éthanolique de DPPH.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc qui contient 500 µl d'éthanol avec 500 µl de méthanol.

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité antiradicalaire en calculant le pourcentage d'inhibition des radicaux libres (I %) par la formule suivante :

$$I \% = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Où : I % : pourcentage d'inhibition.

At : Absorbance du test effectué.

Ac : Absorbance du contrôle.

2.3.1.3. Calcul des concentrations inhibitrices 50 % (IC₅₀)

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la IC₅₀ ou concentration d'inhibition 50, qui est la concentration d'extrait qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH. Elle est calculée graphiquement par régression linéaire sur des graphes des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées.

2.4. Analyse statistique

Les résultats expérimentaux ont été exprimés en moyenne ± SD de trois répétitions (n = 3), l'analyse statistique a été effectuée par une analyse de la variance (ANOVA) grâce au logiciel (Graph Pad Prism version 9).

Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification des résultats de l'activité antioxydante des différents extraits sont faites par le test ANOVA, les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05 (P <0,05), ainsi que les droites d'étalonnage sont réalisées par régression linéaire.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats et discussion

1.1. Extraction et rendement

L'extraction a été effectuée par deux solvants : l'eau et le méthanol, ce qui a permis l'obtention de deux extraits : aqueux (EAq) et méthanolique (EMet).

Le rendement est exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante sèche, déterminé par la formule indiquée dans la partie matériels et méthodes (Tab. II).

L'observation des résultats obtenus nous a permis de conclure : La richesse de *T. vulgaris* en molécules polaires, le rendement de l'extrait aqueux est supérieur à celui de l'extrait méthanolique (Fig. 9), ce qui permet de dire que les molécules existantes sont fortement polaires. Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait aqueux 15,5%, suivi par l'extrait méthanolique 5 %.

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif ; il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. D'autre part, la méthode d'extraction affecte également le contenu total en phénol et flavonoïdes (Lee, K. *et al.* (2003).

Tableau II : Résultats et rendement d'extraction des deux extraits.

Extrait	Poids de résidus	Poids de l'extrait sec (Aspect, Couleur)	Rendement
EAq	20 g	3.1 g (poudre fine, miellée)	15.5 %
EMet	50 g	2,5 g (pâteux, cristallin, verte foncée)	5 %

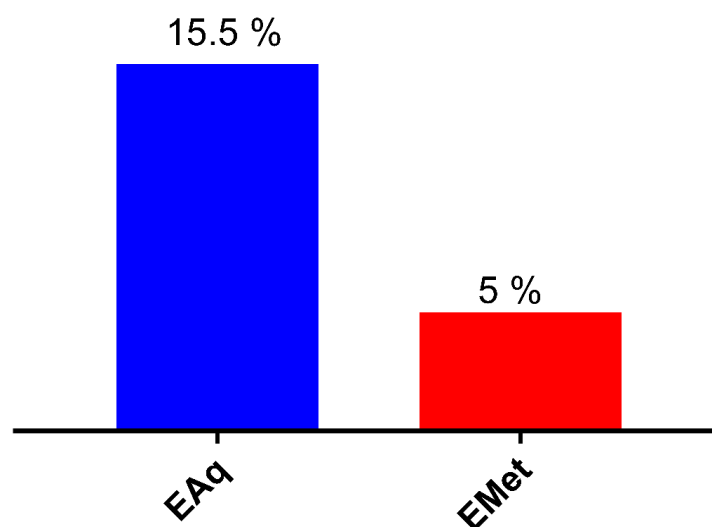


Figure 9 : Histogramme du rendement de l'extraction.

1.2. Composition chimique

1.2.1. Teneur en polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 760 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation : $Y = 0,001617x + 0,001159$ sachant que $R^2 = 0,9855$ (Fig. 10).

La quantité des polyphénols a été rapportée en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme de l'extrait (μg EAG/mg de l'extrait). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux dans l'extrait EAq est de $77,41 \pm 7,27 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait, relativement faible par rapport à EMet qui est de $106,5 \pm 4,796 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait.

L'analyse statistique concernant l'évaluation quantitatif des polyphénols, montre qu'il y a une différence significative entre les deux extraits EAq et EMet ($P < 0,05$), cela peut être expliquer garce aux différentes méthodes d'extraction, et aux différentes solvant utilisé, dans ce cas l'utilisation de la méthode de macération avec le méthanol est plus efficace que la décoction pour l'extraction des polyphénols a partir des feuilles de *Thymus vulgaris*.

Les travaux de Masoud Nateqi et Sayid Mahdi Mirghazanfari, (2018), ont montré que la quantité des polyphénols dans l'extraits méthanolique des feuilles de *Thymus vulgaris* est estimé de $70,55 \mu\text{g}$ EAG/ mg d'extrait, cette quantité est très faible par rapport aux quantités de polyphénols dans notre EMet.

1.2.2. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), la quercétine a été utilisé comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation : $Y = 0,02327x + 0,04389$ sachant que $R^2 = 0,9934$ (Fig. 12).

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en microgramme équivalent de la quercétine par milligramme d'extrait (μg EQ/mg de l'extrait). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavonoïdes dans l'extrait EAq est de $61,28 \pm 1,583 \mu\text{g}$ EQ/mg d'extrait, relativement faible par rapport à EMet qui est de $146,4 \pm 2,260 \mu\text{g}$ EQ/mg d'extrait.

Pour la différence en teneur en flavonoïdes, l'analyse statistique a montré qu'il y une différence significative ($P < 0,05$) entre les deux extraits, la quantité des flavonoïdes dans EMet est supérieurs à celle de EAq, La différence des teneurs entre EAq et l'extrait EMet peut être attribué à l'affinité et la solubilité sélectives des polyphénols et des flavonoïdes entre le méthanol

et l'eau, dont les composés ayant un haut degré d'affinité et une forte solubilité vis-à-vis du méthanol, représentent la fraction la plus élevée (Tab V).

Les travaux de Eghdami A., *et al.*, (2013), sur l'extraits méthanolique des feuilles de *Thymus vulgaris*, ont montré que la quantité des flavonoïdes est estimée de 4.303 EQ/g d'extrait,

D'après les résultats, on peut constater que tous les extraits de la plante étudiés, sont riches en polyphénols et flavonoïdes mais avec des quantités différentes.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques tels que les méthodes d'extraction, les facteurs géographiques et climatiques, le patrimoine génétique, la période de la récolte, le degré de maturation de la plante ainsi que la durée de stockage (Pedneault *et al.*, 2001).

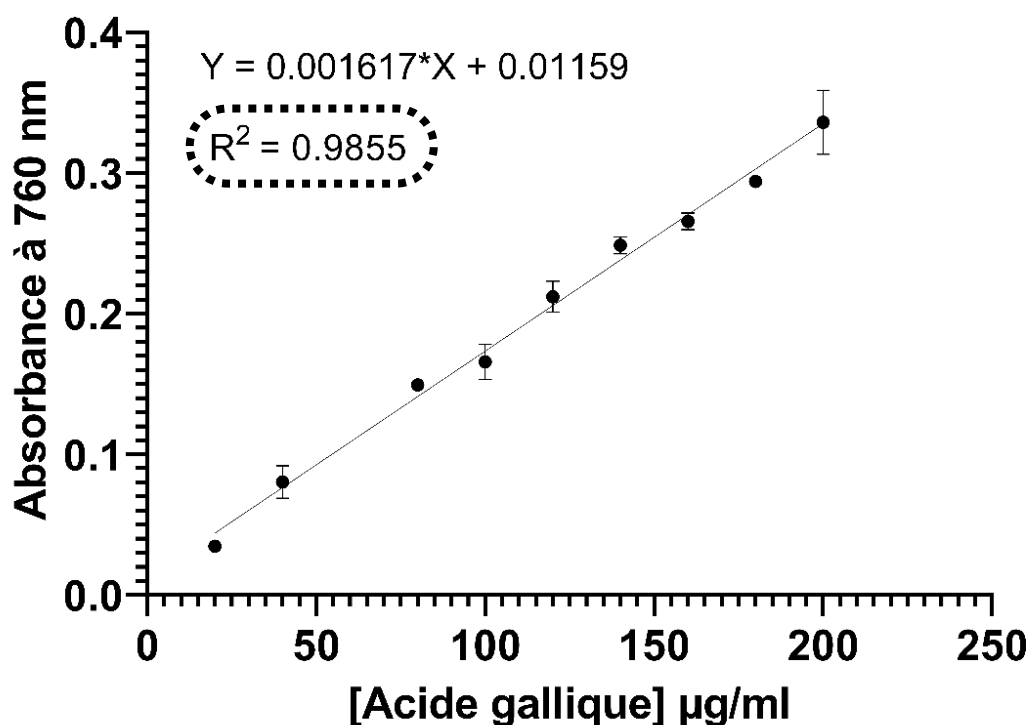


Figure 10 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

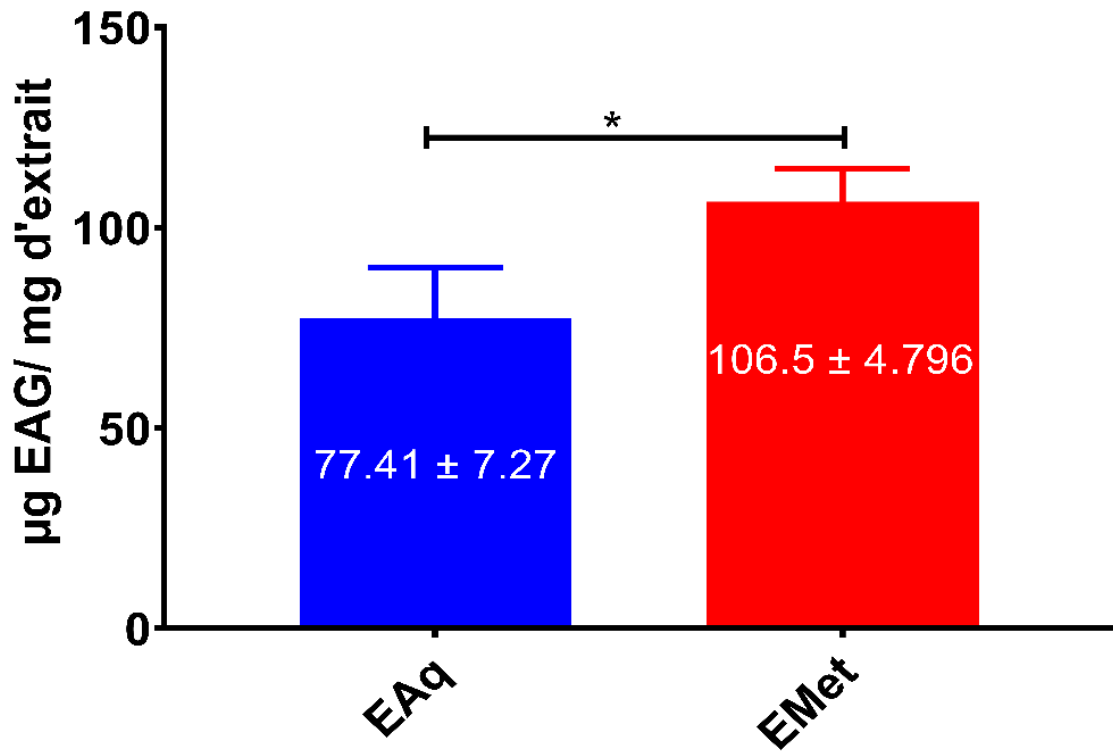


Figure 11 : Histogramme de la teneur en polyphénols des deux extraits.

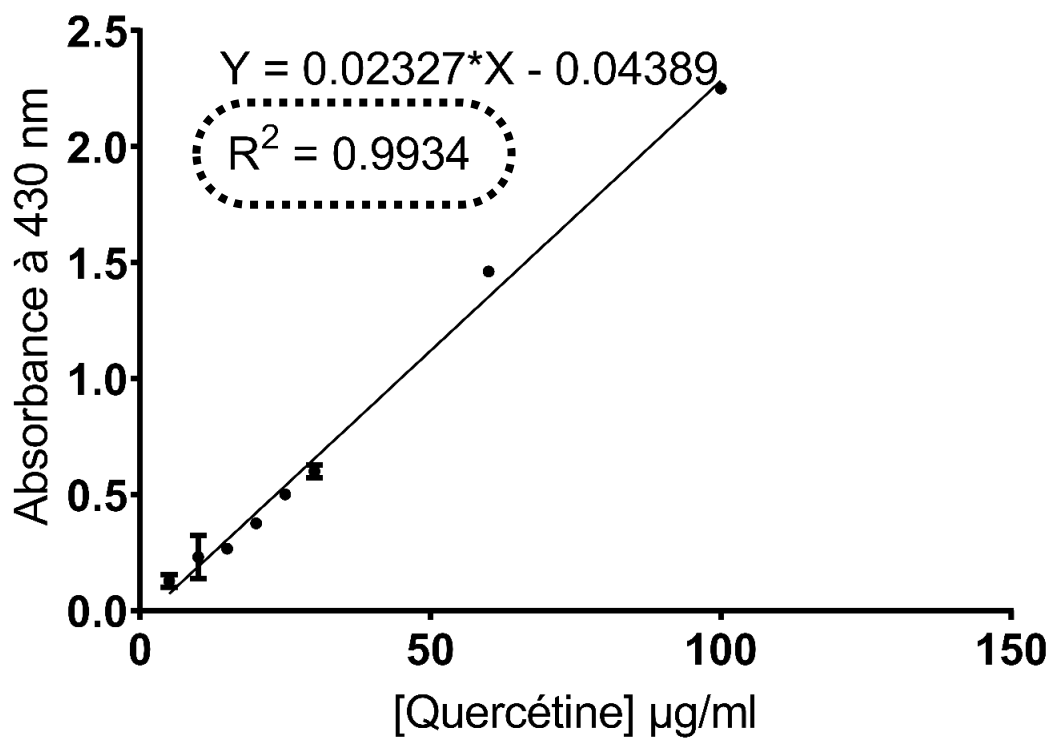


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

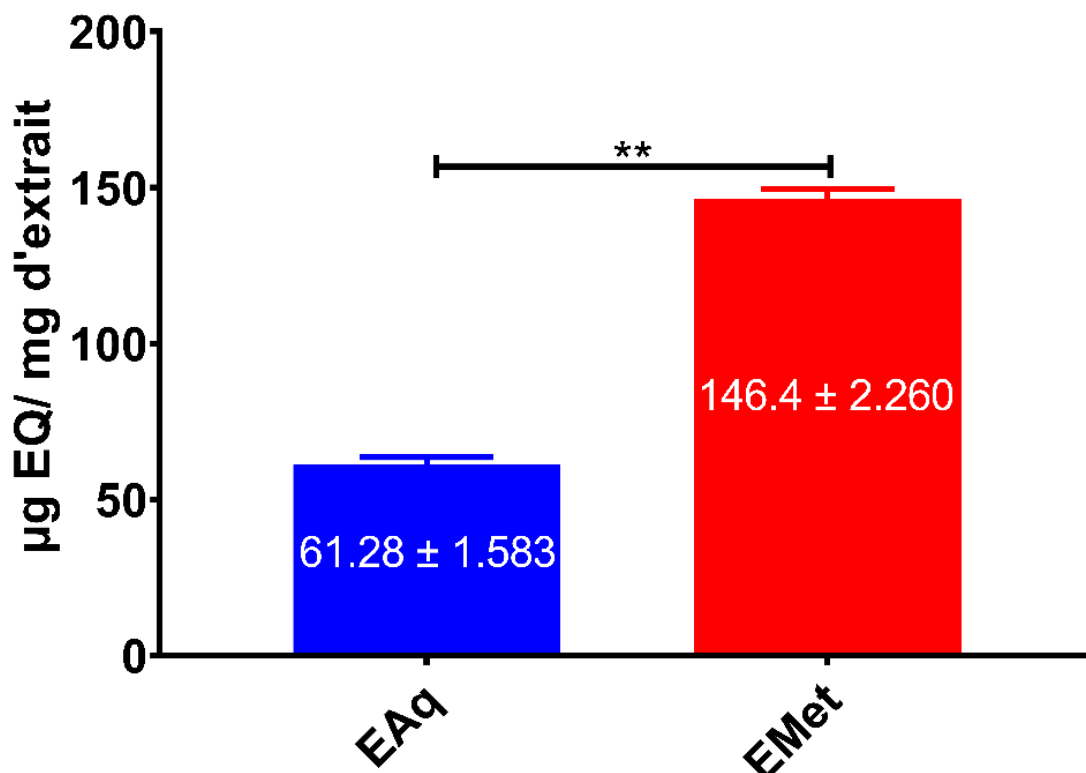


Figure 13 : Histogramme de la teneur en flavonoïdes des deux extraits.

Tableau III : Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des deux extraits.

Extrait	Polyphénols	Flavonoïdes
EAq µg EAG/mg d'extrait	77.41 ± 7.27	61.28 ± 1.583
EMet µg EQ/mg d'extrait	106.5 ± 4.796	146.4 ± 2.260

1.2.3. Teneurs en flavones et flavonols

La quercétine a été utilisée comme étalon à différentes concentrations, La teneur en flavones et flavonols est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). Le taux des flavones et flavonols des quatre extraits ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage (Fig.) qui suit une équation de type :

$$y = 0,03493 x + 0,2252 \text{ sachant que } R^2 = 0,9966.$$

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavones et flavonols (Fig. 14) dans l'extrait EAq est de $153.2 \pm 1.872 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$, relativement faible par rapport à EMet qui est de $328.6 \pm 12.37 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$.

A notre connaissance, Aucun résultat sur le dosage des flavones et flavonols n'a été rapporté par d'autres auteurs sur *Thumus vulgaris* pour pouvoir comparer nos résultats.

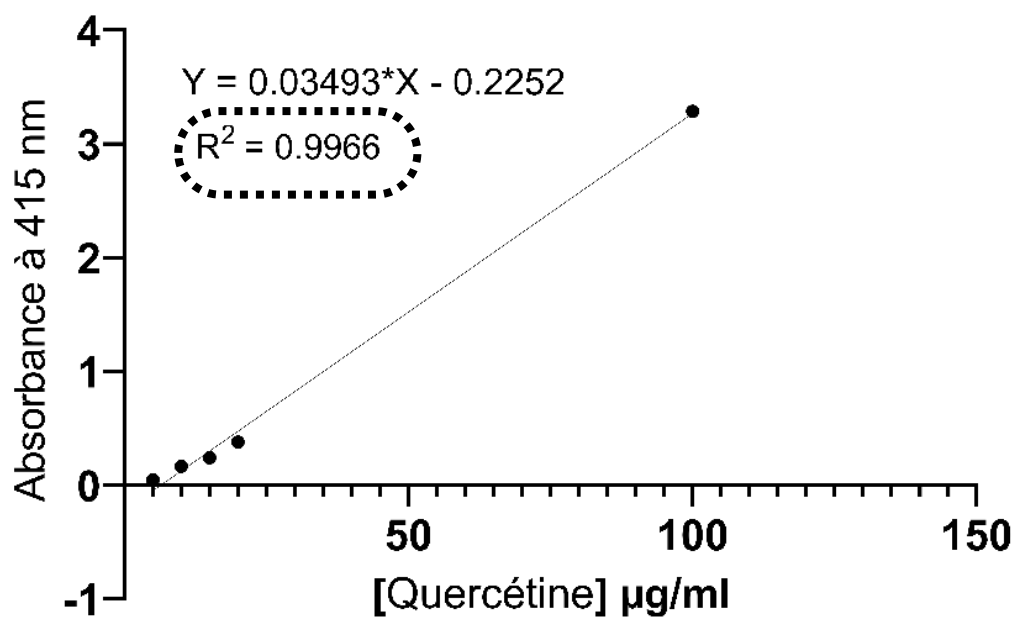


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavones et flavonols.

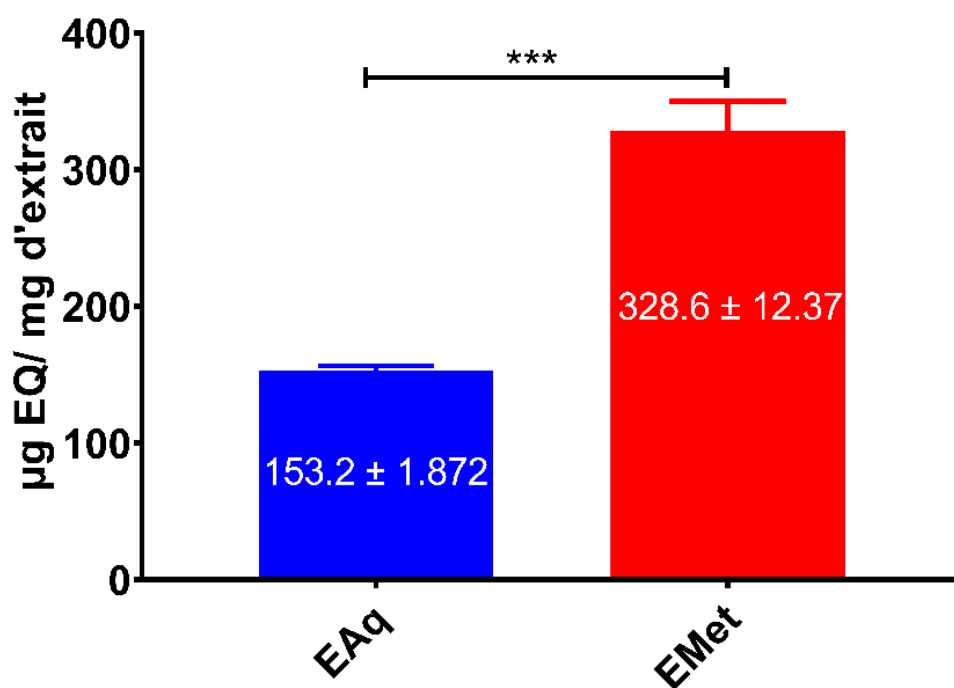


Figure 15 : Histogramme de la teneur en flavones et flavonols des deux extraits.

1.3. L'activité antioxydante et antiradicalaire

1.3.1. Test anti-radicalaire (Test au DPPH)

L'activité antioxydant de nos extraits a été évaluée par le test au DPPH ; le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des composés polyphénoliques. Dans ce test on utilise le BHT comme standard.

La capacité de piégeage du radical DPPH est basée sur la détermination de la diminution de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH à 517 nm.

D'après les résultats obtenus (Fig.16), nous avons enregistré une augmentation des pourcentages d'inhibition de DPPH· En fonction des concentrations des extraits étudiés. La réalisation de la cinétique de cette activité permet d'une part de déterminer les pourcentages d'inhibition maximale et d'autre part de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC₅₀), la valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. L'observation de ces résultats, nous a permis de conclure que tous les extraits présentent un pouvoir antiradicalaire.

Les travaux de Masoud Nateqi et Sayid Mahdi Mirghazanfari (2018), sur l'extrait méthanoïque des feuilles de *Thymus vulgaris*, ont montré que l'IC₅₀ vis-à-vis le radical DPPH· est estimée de 35.50 µg/ml, cela confirme que les racines sont riches de polyphénols plus que les graines.

L'observation de ces résultats, nous a permis de conclure que tous les extraits présentent un pouvoir antiradicalaire dose dépendant, avec des profils d'allure exponentiels, suivie d'une phase stationnaire présentant le pouvoir maximal.

Les extraits EMeOH et EAQ atteignent un pouvoir maximal de l'ordre de 50.24, 62.84% respectivement à la concentration de 500 µg/ml. Ces profils sont inférieurs à celui du BHT qui atteint un pouvoir maximal de 84,89 % à la concentration de 300 µg/ml (Tab IV).

Après analyse de nos résultats, nous déduisons que l'extrait EMeOH est le plus actif avec une activité anti radicalaire importante par rapport à celles trouvées pour l'extrait EAQ à cause de teneur élevée des polyphénols et flavonoïdes.

A travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points de vue sont notées à propos de cette corrélation. Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre les IC₅₀ et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, (Athamena *et al.*, 2010).

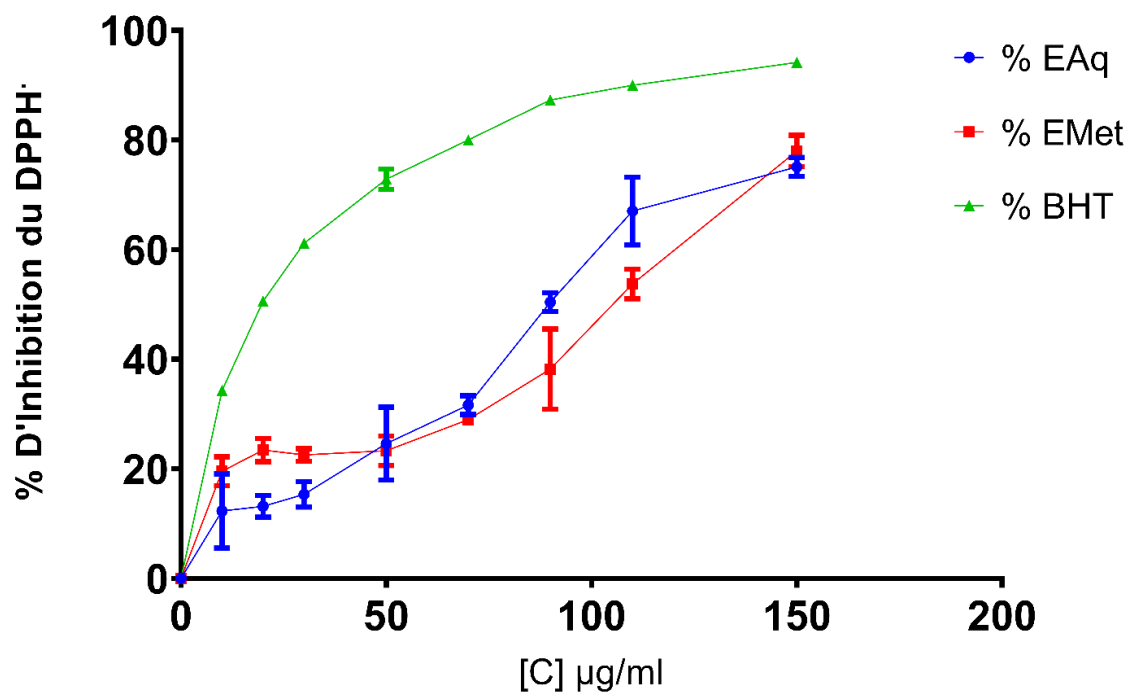


Figure 16 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des deux extraits et du BHT.

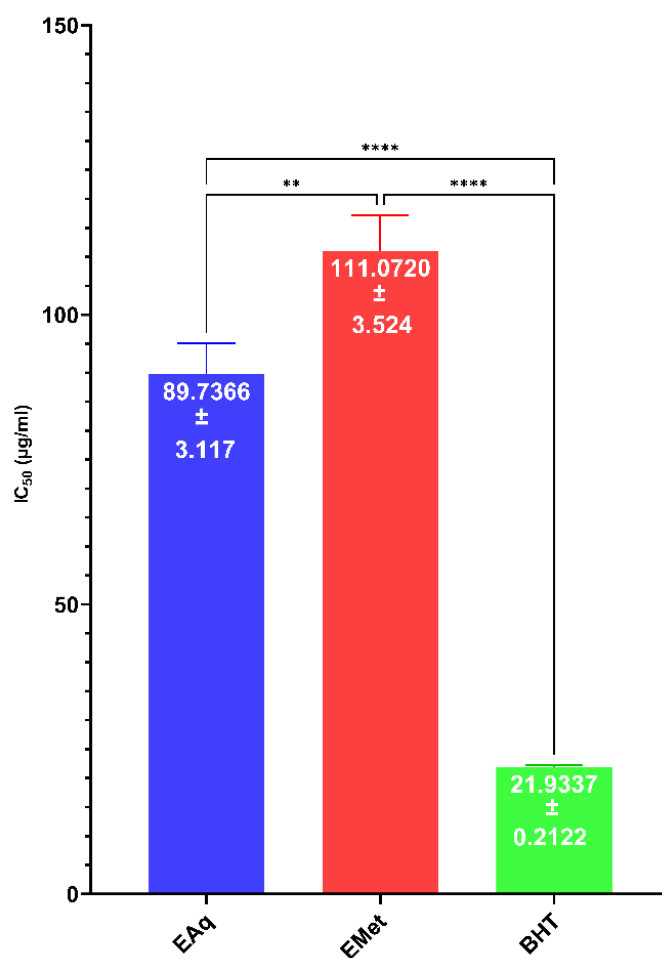


Figure 17 : Histogramme des IC₅₀ des deux extraits de *T. vulgaris* et du BHT.

Tableau IV : Pouvoir antiradicalaire des deux extraits EAq et EMet des feuilles de *T. vulgaris* vis-à-vis le radical DPPH.

Extrait	% d'inhibition maximal (concentration d'inh max µg/ml)	IC₅₀ (µg/ml)
EAq	62.84 (500)	89.73± 3.11
EMet	50,24 (500)	111.07± 3.52
BHT	84,89 (300)	21.93 ± 0.21

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Leur utilisation est en progression constante, étant donné la toxicité et les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à une étude comparative en composés phénoliques et à l'activité antioxydant des extraits (EAq et EMet) d'une plante Algérienne appartenant au genre *Thymus* (lamiaceae).

De cette étude, nous pouvons ressortir les points suivants :

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé la présence de quantités importantes de polyphénols dans les extraits de la plante étudiée. Cependant, l'extrait EMet ($106.5 \pm 4.796 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$) est le plus riches en polyphénols que l'extrait EAq ($77,41 \pm 7.27 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$).

En parallèle, la quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus par ce dosage nous ont permis de conclure que l'extrait EMet ($146.4 \pm 2.260 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$) est le plus riches en flavonoïdes que l'extrait EAq ($61.28 \pm 1.583 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$).

L'activité antioxydante a été évaluée par deux tests différents : l'inhibition du radical DPPH et le pouvoir réducteur. Les résultats ont montré que les deux extraits EAq et EMet possèdent une activité antioxydante et antiradicalaire importante, grâce à leur constituants (composés polyphénoliques), et on observe que cette activité est élevée dans l'extrait obtenu par macération, par rapport à l'extrait obtenu par décoction.

L'étude de l'activité antioxydante des deux extraits de *T. vulgaris* suggère que, cette plante représente une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques possédant des activités biologiques importantes. Ces résultats ne constituent qu'une ébauche dans le domaine de la recherche des antioxydants. En perspectives, on peut prévoir l'étude de plusieurs aspects complémentaires à nos résultats :

Dans un premier temps, faire un fractionnement de ces extraits et identifier les molécules responsables du pouvoir antioxydant en utilisant des techniques de purification et d'identification plus performantes. Dans un deuxième temps, il serait intéressant d'évaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes et de faire des tests *in vivo*.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- ADWAN, G. M., Abu-Shanab, B., Adwan, K., & Abu-Shanab, F. (2007). Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turkish Journal of Biology*, 30(4), 239-242.
- Amiot, J. (2005). *Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires* (Doctoral dissertation, École nationale supérieure agronomique (Montpellier)).
- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11(1), 69-81.
- Bazylko, A. G. N. I. E. S. Z. K. A., & Strzelecka, H. A. L. I. N. A. (2007). A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitoterapia*, 78(6), 391-395.
- Benslama, A., Harrar, A. (2016). Free radicals scavenging activity and reducing power of two Algerian Sahara medicinal plants extracts. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(6), 158-161.
- Benslama, A., Harrar, A., Gul, F., & Demirtas, I. (2017). Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Zizyphus lotus* L. leaves extracts. *The natural products journal*, 7(4), 316-322.
- Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* [Thèse]. Nancy : Université Henri Poincaré faculté de pharmacie.
- Charles, D. J. (2012). *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*. Springer Science & Business Media.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.
- Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Oxidative stress in farm animals: general aspects. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*.
- Eghdami, A., Eizadi, M., & Sadeghi, F. (2013). Polyphenolic content and antioxidant activity of hydroalcoholic and alcoholic extract of *Thymus vulgaris*. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 3(5), 94-101.
- Fadili, K., Zerkani, H., Amalich, S., & Zair, T. Etude phytochimique et evaluation de l'activite antioxydante des feuilles et des fruits du capparispinosa l. phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L.
- Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Else
- Favier, A., (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*13, 108-115.
- Favier, A., (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

- Favier, A., Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique 2003 : 108 p.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Emami Bistghani, Z., & Malekpoor, F. (2015). An overview on genus *Thymus*. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)*, 6(2), 93-100.
- Ghelichnia, H. (2016). Essential oil composition of three species of thymus growing wild in mazandaran, Iran. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 49(2), 107-113.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle- Feat T., Biaujeaud M., *et al.*, 2001. Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse. Paris, 335p.
- Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. 2e Ed Larousse.
- Jiménez-Arellanes, A., Martínez, R., García, R., León-Díaz, R., Luna-Herrera, J., Molina-Salinas, G., & Said-Fernández, S. (2006). *Thymus vulgaris* as a potencial source of antituberculous compounds. *Pharmacologyonline*, 3, 569-574.
- Jun W.J. ; Han B.K. ; Yu K.W. ; Kim M.S. ; Cang I.S ; Kim H.Y. ; Cho H.Y., (2001). Food chem. and Soxhlet extraction of essentiels oils of origanum. Vol 75. P, 439-444.
- Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., A.-K. Z. and B. K. (2005). Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, 15 : 129-133.
- Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. A. N. D. A. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *ACTA PHARMACEUTICA-ZAGREB-*, 54(1), 65-72.
- Kulišić, T., Dragović-Uzelac, V., & Miloš, M. (2006). Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technology & Biotechnology*, 44(4).
- Labiad, M. H., Harhar, H., Ghanimi, A., & Tabyaoui, M. (2017). Phytochemical screening and antioxidant activity of Moroccan thymus satureioides extracts. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(6), 2132-2139.
- LALAMI, A. E. O., Fouad, E. A., OUEDRHIRI, W., CHAHDI, F. O., GUEMMOUH, R., & GRECHE, H. (2013). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioidis*. *Les technologies de laboratoire*, 8(31).
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(25), 7292-7295.
- Mabberley, D. J. (1997). *The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants*. Cambridge university press.
- Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p. 4-5.

- Maihebiau, P. (1994). La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. *Lausanne, 635p.*
- Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002, December). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson.
- Mebarki, N., Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne. 2010.
- Meddour A., Yahia M., Benkiki1 N., Ayachi A. 2011. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparispinosa L. *Lebanese Science Journal* 14(1):49-60.
- Morales, R. (1997). Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagasalia*, 19 (1-2), 249-262.
- Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. *Thyme: the genus Thymus*, 1, 1-43.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Dominguez, J., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez M. J., Carlos Parajo, J. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*;72(2):145-171.
- Nadia, Z., & Rachid, M. (2013). Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus vulgaris* L. *Medicinal and Aromatic Plant Research Journal*, 1(1), 5-11.
- Nakajima, K., Nakano, T., & Tanaka, A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta*, 367(1-2), 36-47.
- Nickavar, B., Mojab, F., & Dolat-Abadi, R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food chemistry*, 90(4), 609-611.
- Ozcan, M., & Chalchat, JC (2004). Profil aromatique de *Thymus vulgaris* L. poussant à l'état sauvage en Turquie. *Journal bulgare de physiologie végétale*, 30 (3-4), 68-73.
- Pariente L. (2001) Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2^{ème} Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
- Pastre, J. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques (Doctoral dissertation).
- Pedneault, K., Leonhart, S., Angenol, L., Gosselin, A., Ramputh, A., Arnason, J., (2001). Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la Lebanese. *Science Journal*, 12 :1-9.
- Peter, K. V. (Ed.). (2012). *Handbook of herbs and spices*. Elsevier.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.
- Que, F., Mao, L., & Pan, X. (2006). Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Research International*, 39(5), 581-587.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (No. 581.965 Q8).
- Raghavan, S. (2006). *Handbook of spices, seasonings, and flavorings*. CRC press.

- Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International journal of infectious diseases*, 10(3), 236-241.
- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, É., Sudraud, P., & Riberau-Gayon, P. (1972). *Traité d'oenologie: Sciences et techniques du vin*.
- Ryma, L. A. B. I. O. D. (2016). *Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide* (Doctoral dissertation, Université BADJI Mokhtar Annaba).
- Salvador A., Alberto C. *Analysis of Cosmetic Products*. Elsevier London Ed 2011: 217p.
- Shibamoto T, (2014). *Measuring the Antioxidant Activity of Food Components in Bartosz G., Food Oxidants and Antioxidants Chemical, Biological, and Functional Properties*, CRC Press, Etats unis, 550 pages.
- Spichiger, R. E., Figeat-Hug, M., & Jeanmonod, D. (2002). *Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*. PPUR presses polytechniques.
- Stahl-Biskup, E. (2002). Essential oil chemistry of the genus *Thymus*—a global view. *Thyme: the genus Thymus*, 75-124.
- Stahl-Biskup, E., & Sáez, F. (Eds.). (2002). *Thyme: the genus Thymus*. CRC Press.
- Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *J Mater Environ Sci*, 6, 1111-1117.
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc.
- Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. (2014). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 16, 193-217.
- Thomas, D. (2016). *Les antioxydants de nos jours : définition et applications* (Doctoral dissertation, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges).
- Valenzuela, A., & Nieto, S. (1996). Antioxydants synthétiques et naturels : protecteurs de la qualité alimentaire. *Grasas y aceites* .
- Vergely, C., & Rochette, L. (2003). Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Medecine thérapeutique cardiologie*, 1(3), 131-139.
- Wilson, R. (2002). *Aromatherapy: essential oils for vibrant health and beauty*. Penguin.
- Wong, C. C., Li, H. B., Cheng, K. W., & Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chemistry*, 97(4), 705-711.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218.

تنتمي نبتة *Thymus vulgaris* الى عائلة *Lamiaceés* وهي نبتة طبية واسعة الإستعمال في الطب التقليدي في الجزائر. قدر مردود الإستخلاص بالنقع في الميثانول والغليان في الماء للأوراق بـ 5 و 15.5 % (ك/ك) على التوالي. قدرت عديدات الفينول الكلية في هذه المستخلصات بإستعمال متفاعل Folin-Ciocalteu حيث وجد 106.5 و 77.41 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص لكل من EMet و EAQ على الترتيب. في حين وجدت الفلافونويدات الكلية والمقدرة بطريقة $AlCl_3$ 146.4 و 61.28 ميكروغرام مكافئ الكرسيتين/ملغ من المستخلص لكل من EMet و EAQ على الترتيب. وقدر محتوى الفلافونولات والفلافونات بـ 328.6، 153.2 ميكروغرام مكافئ الكرسيتين/ ملغ بالنسبة لنفس المستخلصات على الترتيب. تقييم نشاط المضاد للأكسدة عن طريق تجربة النشاط المضاد للجذر الحر DPPH والمعبرة عن النشاط المضاد لهذا الأخير 21.93، 111.07 و 89.73 ميكروغرام/مل بالنسبة لـ BHT، EMet و EAQ على التوالي. هذه النشاطية المضادة للأكسدة تم تأكيدها بإختبار القدرة الإرجاعية.

الكلمات المفتاحية: *Thymus vulgaris*، عديدات الفينول، الفلافونويدات، النشاطية المضادة للأكسدة، DPPH.

Abstract

Thymus vulgaris a shrub which belongs to the *Lamiaceés* family. It's a medicinal plant largely used in Algerian traditional medicine. The leaves of the plant were subjected to maceration in methanol (EMet) and by a decoction in distilled water (EAQ). The yields were 5% et 15.5 % (w/w) for EMet and EAQ respectively. Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent and found to be 106.5 ± 4.796 (EMet) and $77,41 \pm 7.27$ (EAQ) μg gallic acid equivalent/ mg of extract. Flavonoids were evaluated by $AlCl_3$ method and shown to be 146.4 ± 2.26 (EMet) and 61.28 ± 1.583 (EAQ) μg quercetin equivalent / mg of extract. The flavones and flavonols were evaluated by $AlCl_3$ method and shown to be 328.6 ± 12.37 (EMet) and 153.2 ± 1.872 (EAQ) μg quercetin equivalent / mg of extract. Antioxidant activity was carried out by the method of radical trapping DPPH*, The 50 percent inhibitory concentration for DPPH. (IC_{50}) were $21,93 \pm 0.21$ (BHT), 111.07 ± 3.52 (EMet) and 89.73 ± 3.11 (EAQ) $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Key words: *Thymus vulgaris*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH.

Résumé

Thymus vulgaris est une plante qui appartient à la famille des *Lamiaceés*. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Les feuilles de la plante ont été soumises à une macération dans le méthanol (EMet) et à une décoction dans l'eau distillée (EAQ). Les rendements étaient de 5% et 15.5 % (m/m) pour EMet et EAQ respectivement. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de 106.5 ± 4.796 (EMet) et $77,41 \pm 7.27$ (EAQ) μg équivalent d'acide gallique/ mg d'extrait. Les flavonoïdes ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium $AlCl_3$, la teneur est estimée à 146.4 ± 2.260 (EMet), et 61.28 ± 1.583 (EAQ) μg équivalent quercétine / mg d'extrait. Les flavones et flavonols ont été évalués par la méthode utilisant les chlorures d'aluminium $AlCl_3$, la teneur est estimée à 328.6 ± 12.37 (EMet), et 153.2 ± 1.872 (EAQ) μg équivalent quercétine / mg d'extrait. L'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de piégeage du radical DPPH*, les concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}) sont estimées à $21,93 \pm 0.21$ (BHT), 111.07 ± 3.52 (EMet) et 89.73 ± 3.11 (EAQ) $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH.