

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



Faculté des sciences

Département de chimie

N° :2022/2023

Domaine : Science de Matière

Filière : chimie

option : chimie pharmaceutique

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Présenté par

BOUDJELLAL Sahar et BOUHAMLAL Arwa

Intitulé

Etude phytochimique et l'activité biologique
d'extrait de composé phénolique de *thymus Munbyanus*
ssp coloratus

SOUTENU LE : 25/06/2023

DEVANT LE JURY :

Dr. KHENICHE Abdelhakim

Univ. M'sila

Rapporteur

Dr. DJERIOUI Ammar

Univ. M'sila

Président

Dr. LAIB Nouri

Univ. M'sila

Examineurs

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant qui nous données la force, le courage, la volonté, la patience et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.

Nous voudrions témoigner de nos remerciements et nos gratitude à nous promotrice **KENICHE Abd Elhakim** , pour la confiance qu'il nous a accordée, son assistance, sa disponibilité, sa compréhension et ses conseils qui m'ont beaucoup aidé à réaliser ce travail.

Nous adressons remerciements et notre grande gratitude à **Ms. HAFFAR Hichem** . Ses

connaissances dans le domaine, ses conseils précieux pour son infinie disponibilité

ainsi que son expérience, ont joué un rôle important à la conception de ce travail.

Nous exprimons notre très grande considération, et notre profond respect à tous les enseignants de la promotion master, 2022-2023 qu'ils trouvent ici le témoignage de notre sincère reconnaissance, pour leurs apports très constructifs.

Nous exprimons nos sincères gratitude, à **Ms. DJRIOU.** pour l'honneur qu'elle fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.

Nous adressons nos remerciements à l'égard de **Ms. LAIB.** qui nous ont fait l'honneur d'examiné ce travail.

Nous n'oublions pas de remercier vivement **Ms.** et les enseignants **Mme. BOUCHLOUCHE** et **Mme. BELHADADE** pour leur aide et soutien moral.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les membres du laboratoire surtout **Mme. Naima** pour leurs conseils et leurs orientations.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

**A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,
j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :**

**A mon exemple dans ma vie mon très cher père «Ahmed» qui m'a
appris d'être persévérance tout au long de mes études ; pour son
sacrifice ; ses conseils et leur encouragements.**

**A la lumière de mes yeux ; à la bougie qui éclaire mes rêves ma
mère «Djamilla» qui m'a apporté son appui durant toutes mes
années d'étude ; pour son sacrifice ; et soutien qui m'ont donné
confiance ; courage et sécurité.**

A mes chers frères: Dhiya Eddine et Abd El Djallil.

**A mes chères sœurs: Nour El Yakin, Imen et Bouthaina;
à leurs encouragements dans les moments difficiles ; merci pour
votre amour.**

A mes aimables petites : Afnan et Sadjia, Lyade et Illine, Ferdawes

A ma binôme Sahar ainsi à toute sa famille

**A mes amies de promo chimie pharmaceutique que j'ai vécu avec
elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.**

**A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement
ou indirectement, à la réalisation de ce travail.**

Arwa



Dédicace Je dédie ce mémoire à

***Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il**

m'a donné pour arriver à ce stade.

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions je dédie ce travail :

*** Ma très chère mère « Malika » tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.**

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

*** A mon cher père « Rabeh » qui m'a soutenu dans mes études et m'a fourni ce dont j'avais besoin pour arriver ici.**

*** A ma belle famille « mes frères et sœurs » qui était à mes côtés et qui m'a aidée et encouragée, et aussi ma tante Zolekha en particulier Zahia que je considère comme ma deuxième mère.**

*** A mes meilleurs amis qui se tenaient à mes côtés, Soulafe , Abeer , Asma , Amina , Fahima , Imane, Naziha, Arwa .**

ainsi qu'à mes collègues master 2 de chimie pharmaceutique.



Résumé

Thymus munbyanus ssp *coloratus* (Zaitra) C'est une plante médicinale de la famille de la menthe. Très répandu en Algérie, il est utilisé comme épice et comme médicament traditionnel pour le traitement des affections respiratoires. Dans cette étude, la composition phytochimique de la plante, l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait de thymus. Les rendements d'extraction de l'extrait méthanolique et aqueux (macération) étaient (16.96 %) grand par rapport au rendement de l'extrait méthanolique (soxlet) (14.9%) .

Les tests phytochimiques ont révélé la présence de différentes familles de composés chimiques dans cette plante . L'évaluation du pouvoir antioxydant par technique de piégeage du radical libre DPPH, sur les deux méthodes d'extraction, il a été constaté qu'il existe une différence entre elles, et la plante de *thymus manbyanus* ssp *coloratus* montre une activité significative par rapport à l'acide ascorbique . L'étude a montré de l'activité antibactérienne pour le *thymus manbyanus* ssp *coloratus*, l'extrait méthanolique , le méthanol et l'eau ont une capacité d'inhibition quasi inexistante contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* laquelle on a estimée à 11mm de l'extrait soxlet et 9mm de l'extrait macération aussi 11mm et 10mm par les deux extractions à une concentration de 12.5 mg/ml successivement.

Mots-clés: *Thymus manbyanus* ssp *coloratus*, polyphénols, DPPH, activité antibactérienne.

Abstract

Thymus munbyanus ssp *coloratus* (Zaitra) This is a medicinal plant in the mint family. Widespread in Algeria, it is used as a spice and traditional medicine for the treatment of respiratory ailments. In this study, the phytochemical composition of the plant, the antioxidant and antimicrobial activity of thymus extract. Extraction yields of the methanolic and aqueous extracts (maceration) were (16.96%) higher than those of the methanolic extract (soxlet) (14.9%).

Phytochemical tests revealed the presence of various families of chemical compounds in this plant. Evaluation of antioxidant power by DPPH free radical scavenging technique, on both extraction methods, showed that there was a difference between them, and the *thymus manbyanus* ssp *coloratus* plant showed significant activity compared to ascorbic acid. The study showed antibacterial activity for *thymus manbyanus* ssp *coloratus*, methnolic extract, methanol and water have an almost non-existent inhibition capacity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* which was estimated at 11mm from extract soxlet and 9mm from extract maceration also 11mm and 10mm by both extraction at a concentration of 12.5 mg/ml successively.

Key words: *Thymus manbyanus* ssp *coloratus*, , polyphenols, DPPH, antibacterial activity.

ملخص

(*Thymus munbyanus ssp coloratus* زعيترا) هو نبات طبي من عائلة النعناع. منتشر في الجزائر ، يستخدم كتوابل وكدواء تقليدي لعلاج أمراض الجهاز التنفسي. في هذه الدراسة ، التركيب الكيميائي النباتي للنبات ، النشاط المضاد للأكسدة ومضاد الميكروبات لمستخلص الغدة الصعترية. كانت مردود استخلاص المستخلص الميثانولي والمائي (النقع) مرتفعًا (16.96%) مقارنة بإنتاجية المستخلص الميثانولي (soxlet). (14.9) كشفت الاختبارات الكيميائية النباتية عن وجود عائلات مختلفة من المركبات الكيميائية في هذا النبات. تم تقييم قوة مضادات الأكسدة بواسطة تقنية إزالة الجذور الحرة DPPH ، على طريقتين الاستخلاص ، حيث وجد أن هناك فرقًا بينهما ، وأظهر نبات الغدة الصعترية *manbyanus ssp coloratus* نشاطًا كبيرًا مقارنة بحمض الأسكوربيك.

أظهرت الدراسة أن النشاط المضاد للبكتيريا في الغدة الصعترية ، والمستخلص الميثانول ، والميثانول والماء لها قدرة تكاد تكون معدومة ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والتي قدرت بـ 11 ملم من مستخلص السوكسل و 9 ملم من النقع أيضًا 11 ملم و 10 ملم. المستخلصان بتركيز 12.5 مجم / مل على التوالي.

الكلمات المفتاحية *Thymus manbyanus ssp coloratus*: ، ، بوليفينول ، ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم.

Liste des abréviations

ssp : sous espèce

Ac : Acide

HE : Huile essentielle

DMSO: Diméthylsulfoxyde

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

EAG : Equivalent d'acide gallique.

mg : Milligramme.

l : litre.

nm : Nanomètre.

mm : millimètre.

UV : Ultraviolet.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

% : Pourcentage.

etc : et cetera.

R² : Coefficient de corrélation.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 %.

g : Gramme.

°C : Degré Celsius.

Liste des figures

Figure 01 : <i>Thymus Munbyanus ssp coloratus</i>	5
Figure 02: Squelette de base des flavonoïdes	10
Figure 03: Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes	11
Figure 04: Principaux types de coumarines	12
Figure 05: Réactions enzymatiques de piégeage des espèces réactives oxygénées ERO	18
Figure 06: Principe de la diffusion du principe actif « méthode des disques »	21
Figure 07: Les étapes d'extraction de la thymus par soxhlet	23
Figure 08: Les étapes d'extraction de la thymus par macération	24
Figure 09: Les réactifs de test des alcaloïdes DRAGENDORFF et BOUCHARDAT	27
Figure 10: Protocole de dosage des polyphénols	30
Figure 11: Protocole de dosage des flavonoïdes	31
Figure 12: Forme active à la Schéma de conversion du DPPH de la forme inactive	32
Figure 13: Protocole du test de piégeage du radicale	33
Figure 14: Les micro-organismes Escherichia coli et Staphylococcus aureus	34
Figure 15: Les bactéries préparés	35
Figure 16: Mesure des extraits	36
Figure 17: Séries des dilutions des extrait	36
Figure 18: L'ensemencement des bactéries	37
Figure 19: Disposition des disques	38
Figure 20: Incubation des échantillons	38
Figure 21: L'aspect des extrait de soxhlet et de macération	40

Figure 22: Test des anthocyanes	43
Figure 23: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	45
Figure 24: Droite de la courbe d'étalonnage de la quercétine	46
Figure 25: Inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique	48
Figure 26: Inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les extraits de soxhlet	49
Figure 27: Inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les extraits de macération	49
Figure 28: Zones d'inhibition de la croissance microbienne des extrait les <i>Escherichia coli</i>	52
Figure 29: Zones d'inhibition de la croissance microbienne des extraits sur les <i>Staphylococcus aureus</i>	52

Liste des tableaux

Tableau 01: Classification des familles de polyphénols	9
Tableau 02: Activités biologiques de quelques composés phénoliques	13
Tableau 03: Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée	18
Tableau 04: Rendements des extraits en pourcentage par rapport au poids total	40
Tableau 05: Résultats du screening phytochimique des plantes étudiées	42
Tableau 06: Teneur des extraits en polyphénols totaux	46
Tableau 07: Teneur des extraits en flavonoïdes	47
Tableau 08: Valeurs des IC50 trouvées pour les extraits des deux extrait étudiée	50
Tableau 09: Valeurs des IC50 trouvées pour les extraits des deux parties pour les deux plantes étudiée	50
Tableau 10: Zones d'inhibition des extraits	51

Sommaire

Résumés

Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	IV
Introduction.....	01

Partie théorique

Chapitre I : Partie bibliographique

I. La plante médicinale étudiée	03
I-1. La plante medicinale <i>T. munbyanus</i> ssp. <i>coloratus</i>	03
I-1-1.Généralité	03
I-1-2.Genre <i>Thymus</i>	03
I-1-3. <i>Thymus munbyanus</i> sous-espèce <i>coloratus</i> (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet	04
I-1-4.Noms vernaculaire.....	04
I-1-5. Description botanique de <i>T. munbyanus</i> Boiss. & Reut.	04
I-1-6. Classification botanique	05
I-1-7. Propriétés thérapeutiques	06
I-1-8.Aires de répartition.....	06
I-1-9. Utilisations Pharmacologiques du <i>Thymus</i>	07
II. Composition chimique.....	07
III. Eléments actifs des plantes médicinales	08
III-1. Définition et fonctions des métabolites secondaires	08
III-2. Classification des métabolites secondaires	08
III-2-1. Les composés phénoliques	08
III-2-2. Les flavonoïdes	10
III-2-3. Quinones	11
III-2-4. Tannins	11
III-2-5. Coumarines	12
IV. Effets biologiques des polyphénols	12

Chapitre II : Partie biologique

I- Le stress oxydatif.....	15
Histoire	15
I-1. Définition.....	15
II.2.Origine du stress oxydatif	16
II-3. Les conséquences du stress oxydant	16
II. Les radicaux libres biologiques	16
III. Production des radicaux libres	16
III-1. Production endogène.....	16
III-2. Production exogène	18
IV. Les marqueurs biologiques de stress oxydant	18
V. Les maladies liées au stress oxydatif	18
VI. Les antioxydants	19
VI-1. Les antioxydants enzymatiques	19
VII. L'activité antimicrobienne	20

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I-1. Matériel végétal.....	22
I-1-1. Origine géographique et période de récolte	22
I-1-2. Préparation du Matériel végétal	22
I-2. Méthodes	22
I-1-1. Préparation des échantillons	22
I-1-2. Extraction	22
I-1-3. Détermination du rendements des extraits secs	25
I-1-4. Etude et analyse phytochimique	25
I -1-4-1. Testes photochimiques.....	25
I-1-4-1-1. Test des polyphénols.....	25
I-1-4-1-2. Test des flavonoïdes	26
I-1-4-1-3. Test des alcaloïdes	26
I-1-4-1-4. Test des coumarins	27
I-1-4-1-5. Test des anthocyanes	27
I.1.4.1.6. Test des cardinolides	27

I-1-4-1-7. Test des quinones	28
I-1-4-1-8. Test des anthroquinones	28
I-1-4-1-9. Test des terpenoides	28
I-1-4-1-10. Test des tanins	28
I-1-4-1-11. Test des saponosides	28
I-1-5. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux	29
I-1-5-1. Dosage des polyphénols totaux	29
I-1-5-2. Dosage des flavonoïdes	30
I-1-6. Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH	31
I-1-7. Evaluation de l'activité antibactérienne	33

Chapitre II : Résultats et discussion

Introduction	39
I. Rendement	40
II. Composition chimique	41
II-1. Screnning phytochimique	41
II-2. Dosage des polyphénols totaux	45
II-3. Dosage de flavonoïdes	46
III. Activité antioxydante	47
III-1. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'acide ascorbique.....	48
III-2. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour les extraits	48
III-3. Calcul des IC50.....	49
IV. Activité antibactérienne	51
Conclusion.....	53
Conclusion générale	V
Références bibliographiques.....	VI

INTRODUCTION

La médecine traditionnelle a toujours accordé une grande importance aux plantes médicinales en tant que source de remèdes naturels. Les recherches récentes ont également mis en évidence le potentiel des plantes pour la découverte de nouveaux médicaments. Les polyphénols, qui sont des composés naturels présents dans de nombreuses plantes, ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés antioxydantes et de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. En effet, les polyphénols possèdent de nombreux effets thérapeutiques et jouent un rôle crucial dans la lutte contre le cancer, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation des lipides. C'est pourquoi ils sont largement utilisés dans la fabrication de produits pharmaceutiques. De plus, les polyphénols contribuent à la protection des plantes contre diverses attaques microbiennes, en particulier celles causées par les champignons, qui pourraient entraîner une perte importante de végétation (**Bruneton, 1999**).

La méthode d'extraction des composés bioactifs joue un rôle crucial dans la récupération des principes actifs de la plante. Différentes méthodes d'extraction ont été comparées pour évaluer leur rendement et leur efficacité. De plus, la teneur en polyphénols, en tant que marqueur important de l'activité biologique des extraits végétaux, a été déterminée.

Outre le rendement d'extraction et la teneur en polyphénols, l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait de la plante a été évaluée. L'activité antioxydante est un indicateur de la capacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres, qui sont impliqués dans de nombreuses maladies. L'activité antibactérienne est évaluée en testant l'efficacité de l'extrait contre des souches bactériennes spécifiques, ce qui peut avoir des implications importantes dans le développement de nouveaux agents antimicrobiens.

Dans ce contexte, ce travail a pour objectif de réaliser des tests phytochimiques et d'estimer la teneur en composés actifs essentiels, notamment les polyphénols, des plantes médicinales endémiques d'Algérie, telles que le *Thymus munbyanus ssp. coloratus* (Boiss. & Reut.), qui sont largement utilisées par la population locale à des fins thérapeutiques et culinaires. De plus, l'étude vise à examiner leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes.

Cette mémoire est organisée en trois chapitres :

Le premier chapitre présente une revue de littérature décrivant les concepts clés pertinents pour le contexte global de notre recherche, tels que la description des

plantes étudiées, leur taxonomie et leurs propriétés thérapeutiques, ainsi que les composés phénoliques.

Le deuxième chapitre décrit l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne.

Le troisième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés.

Enfin, le quatrième chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus, qui portent sur le dépistage phytochimique des métabolites secondaires de la sous-espèce, les extractions de substances naturelles et la quantification des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi que l'étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de cette plante à travers quatre techniques, notamment le piégeage du radical libre DPPH.

Partie I : partie théorique

Chapitre I : Partie bibliographique

I. La plante médicinale étudiée

I.1. *Thymus munbyanus ssp. coloratus* (Boiss .& Reut.) Greuter & Burdet

I.1.1. Généralités

La famille *lamiaceae* est considérée comme l'une des plus importantes familles des plantes à l'échelle mondiale. Elle inclut 250 genres et 6700 espèces distinctes, dont plusieurs jouent un rôle important dans l'économie mondiale grâce à leur utilisation en tant qu'herbes culinaire et médicinales. (Miller et al., 2006). La littérature scientifique pense qu'il est originaire de la famille Labiatae une plante diversifiée souvent utilisée en phytothérapie en raison de sa composition riche les acides phénoliques, des actifs puissants qui confèrent aux plantes leur pouvoir thérapeutique (Zgorka, 2001). Plusieurs genres appartenant à cette famille ont été étudiés, dont *Thymus*.

I.1.2. Genre *Thymus*

Le terme est dérivé du mot grec thymos, une racine grecque (theo) signifiant parfum ou fragrance. Le genre *Thymus* est l'un des genres les plus riches en espèces de la famille des Labiatae. (Hazzit et al., 2006 ; Naghibi et al., 2005). Environ 350 espèces de *thym* sont réparties dans tout le Japon. Différentes espèces du monde et environ 110 genres *Thymus* sont concentrées dans le bassin Région méditerranéenne représentée par 11 espèces de la flore algérienne (Hazzit et al., 2009 ; Amarti et al., 2011).

L'Algérie est l'un des pays les plus riches en variétés de *thym*. (Kabouche et al., 2005). Elle est représentée par 26 espèces végétales, dont l'identification a été conservée Très sensible en raison de sa tendance à muter et à s'hybrider facilement (Bendif et al., 2017).

Des variétés uniques sont présentes exclusivement en Algérie, comme *thymus pallescens* de Noé, *thymus pallescens* de Noé. *dreatensis* Batt., *thymus guyonii* de Noé, *Thymus lanceolatus* Desf.. D'autres sont endémiques *Thymus ciliatus* Desf., d'Afrique du Nord sous le nom de *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. , *thymus numidicus* Poiret., *Thymus munbyanus* Boiss et Reut et *thymus algeriensis* Boiss et Reut (Hazzit et al., 2006, 2009. Bekhechi et al., 2007).

I.1.3. *Thymus munbyanus* sous-espèce *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet

Thymus munbyanus sous-espèce *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet est un petit arbuste. Endémique d'Afrique du Nord (Maira et al., 2019), un membre bien connu de la famille des Lamiacées. En raison de l'abondance de métabolites secondaires, dont les composés phénoliques, Flavonoïdes et terpinoïdes (Kholkhal, 2014) et huiles essentielles à double caractéristique Chémotypes du thymol et du carvacrol (Benchabane et al., 2012)

I.1.4. Noms vernaculaires

Thymus munbyanus subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet est différent Il se lit comme ceci :

Nom français : *Thym* (Trabut, 1935).

Nom arabe : Zaytra (Quezel et Santa, 1963) ; Zaator (Trabute, 1935).

Nom berbère : Jeltil (Trabute, 1935; Quezel et Santa, 1963) .

I.1.5. Description botanique de *T.munbyanus* Boiss.& Reut

T.munbyanus subsp *coloratus* est un petit arbuste de 10 à 30 cm de haut, aux tiges tétraonales , ramifiées et prostrées , et aux petites feuilles (M. V . B. Reddy, 1998). Les fleurs rose –violacé sont accompagnées de petites feuille, ce qui la différencie des autres sous – espèces (P. Quezel and S. Santa,1962) .

La plante se trouve dans les pelouses, les rocailles et les régions montagneuses du nord et de l'ouest de l'Algérie et du Maroc (P. Quezel and S. Santa,1962).

- Sous-espèce *coloratus*

La ssp *coloratus* (Boiss et Reut) Batt. Est caractérisée par sa petite taille et son aspect buissonnant est un sous arbrisseaux à capitule dense, gros et à feuilles florales plus ou moins tachées de pourpre au moins à la base. Les fleurs ne dépassent pas 7 à 8mm et sont en général plus pales (Kholkhal, F. ,(2013),Quezel , P. Santa, S. ,(1962-1963)., Bousmaha-Marroki, 2007).

- Sous-espèce *munbyanus*

Thymus munbyanus subsp. coloratus (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet. se caractérise par des feuilles florales vertes (**Bousmaha- Marroki et al., 2007**). L'ensemble constitue des grappes terminales feuillées, à calice tubuleux avec deux lèvres : la supérieure à 3 dents, l'inférieure à deux, ciliées et dentées. La corolle plus ou moins exserte à deux lèvres, à 2 et 3 lobes. Les étamines sont au nombre de quatre saillantes et plus ou moins divergentes (**Quezel et Santa, 1963**). Le fruit se compose de quatre akènes ovoïdes arrondis (**Bendif et al., 2017**)



Figure 01: *Thymus munbyanus ssp coloratus*

I.1.6.classification botanique de *T.munbyanus* Boiss.& Reut

Le classement de *thymus munbyanus coloratus* est (**Pascual et al . ,1978**) .

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous classe	Métachlamydées (gamopétales)
Ordre	Tubiflorales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus munbyanus</i>

Sous-espèce

T.munbyanus coloratus

I1.7.Propriétés thérapeutiques

De nos jours, le *thym* est une plante typique de la région méditerranéenne, dont les feuilles sont riches en huiles essentielles et possèdent des propriétés thérapeutiques telles que antiparasitaire, antispasmodique, antiseptique, et digestif, entre autres. Plusieurs études (**Ebrahimi et al, 2008; Rasooli et al, 2006; Cosentino et al, 1999**) ont mentionné ses bienfaits. Le *thym* est largement utilisé en médecine traditionnelle sous différentes formes, notamment en décoction pour soulager la toux, les migraines, l'hypertension et la gastrite, ainsi qu'en usage externe pour traiter diverses affections. Ses propriétés antiseptiques sont également utilisées pour traiter les infections **pulmonaires (Rasooli et al., 2006; Adwan et al., 2006; Soto-Mendivil et al., 2006)**. En outre, *T. Coloratus* possède une activité antioxydante due à la présence de flavonoïdes (**Kholkhal, 2013**).

I1.8.Aires de répartition

- **Dans le Monde :** Les plantes du genre *Thymus* forment un groupe de plantes C'est le membre le plus grand et le plus diversifié de la famille de la menthe (**Belmalha, 2015**). Comprend 350 espèces des quatre coins du monde, dont certaines espèces endémiques Il vit dans le sud de l'Europe, l'ouest de l'Asie et le nord-ouest de l'Afrique (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye). Certaines espèces se trouvent également dans les montagnes d'Ethiopie dans le sud de l'Arabie Sud-Est, Égypte, Sibérie, Himalaya (**Dob et al., 2006**).

La région méditerranéenne est le centre de la domestication du thym, Présence de 110 espèces locales dans le genre *Thymus* (**Nickavar et al., 2005**).

- **En Algérie :** L'Algérie, un pays méditerranéen situé sur les hauteurs de l'Afrique du Nord Une zone floristique très diversifiée riche en plantes aromatiques et médicinales sauvages et spontanée (**Miara et al, 2019**).

Grâce à sa superficie et sa diversité écologique, l'Algérie est considérée comme l'un des pays les plus riches en plantes du genre *Thymus*. plus de 20 sortes espèces végétales (**Bendif, 2017**).

Le Taxon; *T. munbyanus*, qui a plusieurs sous-espèces, Écosystème Algérie-Maroc. Trouvé principalement dans les zones sèches (**Miara et al, 2019**).

I.1.9. Utilisations Pharmacologiques du *Thymus*

-En médecine populaire :

L'extrait de thym est recommandé par voie orale pour le traitement de l'indigestion et des troubles gastro-intestinaux. Extérieurement, il était utilisé pour les maladies bucco-dentaires, les rhumes et les plaies superficielles. Elle a également été utilisée comme traitement complémentaire des maux hivernaux et des démangeaisons, sous forme de bains aromatiques ou en compresses après infusion. L'HE de *Thym* est utilisée comme antiseptique et comme ingrédient de base dans les onguents cicatrisants et les sirops contre la toux. (Goetz, 2012).

En phytothérapie algérienne, elle est utilisée comme expectorant, antitussif, antiseptique, tonique gastrique, antispasmodique, vermifuge et diurétique. En particulier, des études ont montré une activité antioxydante et antibactérienne significative des différentes espèces du genre *thymus* étudiées (Kholkhal, 2014).

Traitement des troubles respiratoires et bronchites et gastro-intestinaux (ballonnements du haut de l'abdomen), hypertension, diabète, troubles endocriniens, et usage externe comme médicament et antiseptique (Miara et al, 2019)

Thymus munbyanus, connu pour ses propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et antiprolifératives (Sofiane et al, 2015 ; Bendif et al, 2016).

L'huile essentielle de thym possède bactéricide, antifongique, antiprolifératives et antibactérienne très prononcées (Bruneton, 2009)

L'extrait de thym a des propriétés antioxydantes en raison de sa capacité à piéger les radicaux libres et à minimiser le stress oxydatif (Sofiane et al, 2015).

II. Composition chimique

Les flavonoïdes sont les métabolites secondaires les plus importants du *Thymus*. Le genre *thymus* appartient à la sous-famille des Nepetoideae, qui est connue pour être riche en composés flavonoïdes, notamment les flavonoïdes polyméthoxylés (Ismaili et al, 2001; Haraguchi et al., 1996). La lutéoline et la 6-hydroxythéoline dérivées de la thymusine de *thymus* (5,6-dihydroxy-7, 8,4'-triméthoxyflavone) sont également des caractéristiques de cette sous-famille.

III. Eléments actifs des plantes médicinales

Les plantes sont considérées comme plateforme d'un dynamisme métabolique intensif emmenant à la biosynthèse de divers principes actifs. Un processus qui est profondément lié à leurs conditions de vie et même à leur environnement botanique: Les plantes doivent faire face à plusieurs attaques de l'environnement. Elle habite dans :Prédateurs, micro-organismes pathogènes, etc. On pense que les plantes peuvent le faire développer un métabolisme spécifique qui permet le plus de synthèse divers pour se protéger :Métabolites secondaires (Kansole, 2009).

III.1. Définition et fonctions des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes qui sont synthétisées et fabriquées accumulés en faible quantité par les plantes autotrophes, ils sont principalement classés en trois grandes familles: Polyphénols, terpènes, alcaloïdes (Lutge et al, 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007).

III.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits en très petites quantités 200 000 métabolites secondaires classés selon des groupes chimiques, en l'occurrence des terpènes, des alcaloïdes, des composés acétyléniques, des cires et des composés phénoliques (Vermeris, 2006). Il existe trois classes principales :

III.2.1. Les composés phénoliques
















Les polyphénols sont des composés phytochimiques présents dans toutes les plantes vaisseaux sanguins. (Rebham, 2005). On les trouve dans toutes les parties de la plante supérieur (racine, tige, feuille, fleur, pollen, fruit, graine, bois); également impliqué dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la formation des racines, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

Ils rassemblent une grande quantité de plus de 8000 molécules réparties en environ 10 classes chimiques, et toutes les classes chimiques ont une chose en commun .Leur structure contient au moins un cycle aromatique à 6 carbones avec un nombre variable de fonctionnalités OH-hydroxyle (Hennebelle et al, 2004).

Ils proviennent biogénétiquement de deux voies de synthèse principales. Les voies du shikimate et de l'acétate (**Lugasi et al, 2003**). Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe le plus important de composés phytochimiques végétaux (**Bêta et al, 2005**).

Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans la chaîne principale (**Dacosta, 2003**). Il existe plusieurs classes de polyphénols, principalement des acides phénoliques, phénols simples, stilbènes, coumarines, tanins, quinones, flavonoïdes, lignanes, lignines et xanthones (**tableau 01**).

Tableau 01: Classification de la famille des polyphénols (**Garcia-Salas et al, 2010**).

Numéro de carbone	Classe	Structure de base
C ₆	Phénols simple	
C ₆	Benzoquinones	
C ₆ -C ₁	Acide benzoïque	
C ₆ -C ₂	Acétophénone	
C ₆ -C ₃	Acide phénylacétique	
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique	
C ₆ -C ₃	Phénylpropène	
C ₆ -C ₃	Coumarines	
C ₆ -C ₃	Chromones	
C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Anthraquinones	
C ₆ -C ₃ -C ₆	flavonoïdes	
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes, neolignanes	
(C ₆ -C ₁) _n	Tannins hydrolysables	Polymère hétérogène composé d'acides phénoliques et sucres simples
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	
		Aromatique hautement réticulé polymère

III.2.2. Les flavonoïdes

Les polyphénols sont des composés dont la structure de base est C₆-C₃-C₆ et sont constitués de deux noyaux aromatiques (Cycle A et B) reliés par un hétérocycle oxygéné (Cycle C), c'est le squelette de base des flavonoïdes (**Erlund, 2004**) (**Tableau 01, Figure 02**)

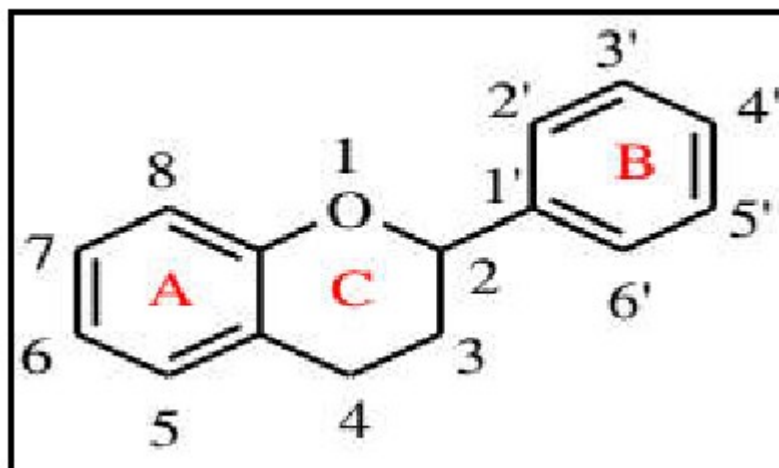


Figure 02: Squelette de base des flavonoïdes (**Erlund, 2004**).

On les retrouve dans toutes les plantes vasculaires, dans divers organes: racine, tiges, feuilles et fruits (**Bruneton, 1999**). Ils sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons, certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (**Elicoh-Middleton, 2000**). Les flavonoïdes se rencontrent libre (Aglycones ou génines), soit sous forme d'hétérosides C- ou O-glycosides comme l'hyperoside et la rutine (Glycoside entre la quercétine de flavonol et le rutinose de disaccharide) (**Dacosta, 2003**). Ils se répartissent en plusieurs classes : flavones (Apigénine, Luteoline), flavonols (Quercétrine, Kaempférol, Myricétine et Catéchine), flavanones (Naringénine), dihydroflavonols, flavanes, flavanonols, flavan-3-ols (Epicatéchine), flavylum, chalcones, aurones et anthocyanines (Pélargonidine, cyanidine et péonidine), les chalcones (Butéine et phlorétine) et les isoflavonoïdes (Isoflavones, roténoïdes) et les coumaranochromones (**Bruneton, 2009**) (**Figure 02**). Les flavonoïdes partagent une origine biosynthétique commune, suite à deux voies complémentaires, voie acétate malonate et voie shikimate (**Elicoh-Middleton, 2000**) (**Figure 03**).

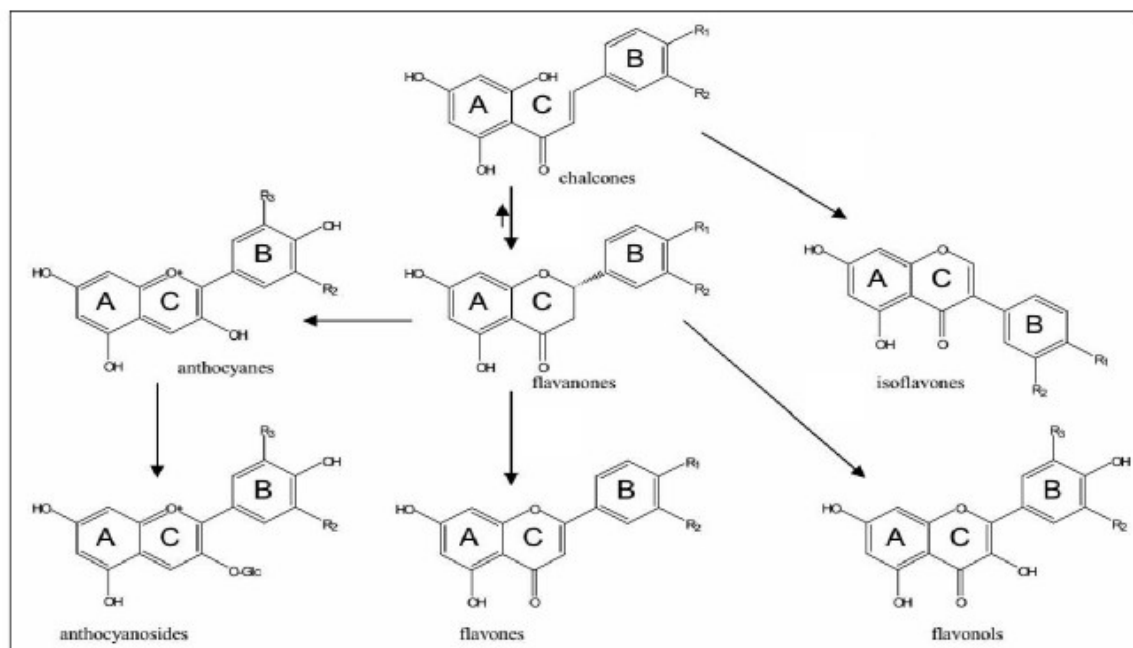


Figure 03: Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes (Winkel-Shirley, 2001).

III.2.3. Quinones

Les quinones sont des composés aromatiques à cycle benzénique (C6) (éthylènedicétones conjuguées cycliques), comme la benzoquinone (**tableau 01**), où deux atomes d'hydrogène sont remplacés par deux atomes d'oxygène pour former deux liaisons carbonyle (obligations). Ce sont des oxygénés correspondant à l'oxydation des dérivés aromatiques par deux substitutions cétoniques. Ils sont caractérisés par des motifs 1,4-dicéto-cyclohexa-2,5-diène (para-quinones) ou éventuellement des motifs 1,2-dicéto-cyclohexa-3,5-diène (ortho-quinones). (**Bruneton, 1993**). Les quinones sont utilisées dans les colorants, les produits pharmaceutiques et les fongicides.

III.2.4. Tannins

Les tanins sont très abondants chez les angiospermes dicotylédones (tanin hydrolysable) et gymnospermes (tanins condensés). Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 PM (**Atefeibu, 2002**). Particulièrement répandue dans les tissus anciens et les origines pathologiques. Ces composés ont en commun la propriété de tanner la peau (lier des macromolécules (protéines, polysaccharides...) avec des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes). Utilisé dans la transformation des aliments et la clarification (propriétés biologiques) du vin, de la bière et des jus de fruits.

Leurs structures complexes consistent en des unités monomériques répétées avec différents centres asymétriques. Ils sont composés soit de polyols (ou de polyalcools ou de glycols caractérisés par des groupements hydroxyles) (principalement du glucose), soit de catéchines ou de triterpénoïdes à motifs galloyles attachés (ou leurs dérivés), soit d'oligomères ou de polymères de flavanols. Les deux groupes de tanins se distinguent généralement à la fois par leur structure et leur origine biogénique: tanins hydrolysables, tanins galliques (Bruneton, 2009) (Tableau 01).

III-2-5. Coumarines

Les coumarines sont également des dérivés de C6-C3 (tableau 01) et appartiennent au groupe de composés connus des benzo- α -pyrones (O'Kennedy et Thornes, 1997), tous 7 substitués par hydroxyle. Ils se présentent dans la nature soit à l'état libre soit en association avec des sucres. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une provocation biotique ou abiotique et semblent représenter une défense de type phytoalexine (Figure 04).

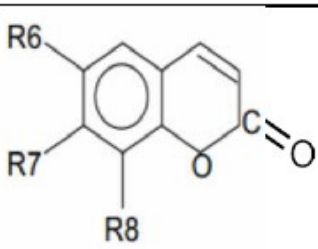
R6	R7	R8	Acides phénoliques	
H	OH	H	Umbelliférol	
OH	OH	H	Aescultol	
OCH ₃	OH	H	Scopolétol	
OCH ₃	OH	OH	Fraxétol	
H	OH	OH	Daphnétol	

Figure 04: Principaux types de coumarines (Macheix et al., 2005).

IV. Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols ont diverses activités physiologiques en fonction de leur structure chimique.

Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement à l'hydroxyanisole butylé (BHA) et aux antioxydants synthétiques tels que l'hydroxytoluène butylé (BHT). Les polyphénols n'ont pas d'effets néfastes sur la santé humaine (Bounatirou et al., 2007). Ces composés ont des propriétés anti-cancérigènes, anti-inflammatoires, anti-athérogènes, antithrombotiques, antalgiques, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses (Babar Ali et al., 2007), antiallergiques, vasodilatatrices (Falleh et al., 2008), antioxydants (Gomez Caravaca et al., 2006).

Les polyphénols jouent également un rôle dans la régulation de la croissance. Développement des plantes par interaction avec diverses hormones végétales croissance. Ils permettent aux plantes de se protéger des rayons UV. Certains d'entre eux agissent comme des phytoalexines, comme les isoflavonols, pour combattre les infections causées par des champignons et des bactéries (**Makoi et Ndakidemi, 2007**). Les pigments sans azote sont impliqués dans le processus de pollinisation. Ils permettent d'attirer l'attention des insectes pollinisateurs ou, au contraire, de se façonner pour éloigner les prédateurs. D'autres sont des inhibiteurs enzymatiques et interfèrent avec la protection de l'homme contre certaines maladies (**Bruneton, 1999**).

Les polyphénols sont également utilisés comme additifs dans l'industrie agro-alimentaire, colorants, arômes et conservateurs (**Bruneton, 1999**). Ces activités sont résumées dans le tableau suivant:

Tableau 02: Activités biologiques de quelques composés phénoliques (**Bruneton 1999 ; Hennebelle, 2006**).

Composés	Phénoliques	Activité biologique
Ac. Phénolique	Ac. Cafeique Ac. Salicylique	Antibactérienne Antifongique, Antioxydant
Tanins	Tanin gallique Proanthocyanidine	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, anti-diarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur
Flavonoïdes	Lutéoléine Catéchine	Antitumorale, anticarcinogène,

	Hespéridine	anti-inflammatoire,
	Quercétine	antioxydant, antiallergique,
	Naringénine	antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur diurétique.
Coumarines	Dicoumarol	Anticoagulant, antioxydant, protectrice vasculaire et antioedémateuse

Chapitre II: Activités biologiques des extraits de plante

I. L'activité antioxydant

I-1. Le stress oxydatif

Histoire

Les radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ROS), le stress oxydatif et les antioxydants deviennent de plus en plus familiers non seulement aux professionnels de la santé mais aussi au grand public. Cependant, ces idées ne sont pas nouvelles. Il faut garder à l'esprit que **R. Gershmman** et plus tard **D. Hartmann** ont été les pionniers de la toxicité de l'oxygène et de la "théorie des radicaux libres" au milieu des années 1950 pour expliquer le processus de vieillissement. En **1969**, les Américains **Mc Cord** et **Fridovich** ont isolé le système enzymatique antioxydant SOD à partir de globules rouges humains, montrant pour la première fois que notre corps produit réellement des ROS et doit s'en protéger. . Cette découverte sera le point de départ de recherches scientifiques intensives à l'échelle mondiale sur le stress oxydatif et les antioxydants (**Favier, 2003**).

Actuellement, on s'intéresse de plus en plus à la biologie des radicaux libres. Ceci est dû non seulement à leur rôle dans des phénomènes aigus comme les traumatismes et l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques liées à l'âge comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert, 2005**).

I-1. Définition

Le stress oxydatif est classiquement défini comme un déséquilibre dans l'équilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la génération de ROS en faveur de cette dernière. Ce déséquilibre est causé soit par une surproduction d'oxydants, soit par des modifications des mécanismes de défense cellulaires, compartimentaux ou in vivo. Il peut y avoir des causes endogènes, comme une surproduction de facteurs pro-oxydants d'origine inflammatoire, des carences nutritionnelles en antioxydants, ou des causes exogènes. Exposition environnementale aux pro-oxydants tels que le tabac, les médicaments, les rayons gamma, la lumière ultraviolette, les métaux lourds, les métaux, les pesticides, les solvants industriels... etc. (**Pham-Huy, 2008 ; Phaniendra et al., 2015**).

I-2.Origine du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut avoir de nombreuses causes, notamment : B. Carences nutritionnelles ou surproduction inflammatoire endogène d'antioxydants (Madder, 2006) ou intoxication aux métaux lourds (mercure, cadmium, plomb), anomalies génétiques (mauvais codage des protéines), UV et lumière, X...)(pincemail et al.,2002).

I-3. Les conséquences du stress oxydant

Les effets biologiques du stress oxydatif varient considérablement selon le type de cellule et la dose. Les charges légères augmentent la prolifération cellulaire et l'expression des protéines d'adhésion, tandis que les charges élevées provoquent l'oxydation des protéines, de l'ADN et des membranes cellulaires. Une charge modérée favorise l'apoptose, la nécrose et une charge lourde provoque une perturbation des membranes cellulaires, entraînant une lyse immédiate. De nombreuses autres anomalies biologiques sont causées par le stress oxydatif : carcinogénèse, malformations fœtales, mutations, fibrose, dépôt anormal de protéines, dépôt oxydatif de lipides, formation d'auto-anticorps, immunosuppression . (Favier, 2003).

II. Les radicaux libres biologiques

Les radicaux libres sont définis comme des atomes, des groupes ou des molécules qui ont un ou plusieurs électrons non appariés (isolés) dans leurs orbitales externes. Cette propriété confère une réactivité considérable vis-à-vis d'autres molécules plus stables, capturant ou donnant leurs électrons et initiant des réactions en cascade pour générer de nouveaux radicaux. (Carange, 2010).

III. Production des radicaux libres

On distingue deux types de production des radicaux libres :

III.1. Production endogène

L'une des principales sources de ROS est la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production se produit par l'ajout d'électrons à la molécule d'oxygène. Ces réactions sont catalysées par la cytochrome oxydase mitochondriale.



D'autres chaînes de transport d'électrons (ex : Les peroxydes et les microsomes) contribuent également à la production d'O₂ dans les cellules aérobies. Des électrons à O₂ (Sevanian et al., 1990).

Les ROS, en revanche, peuvent survenir dans des processus pathologiques où la génération de radicaux intervient dans les processus inflammatoires (NADPH oxydase et xanthine oxydase) en réponse à des stimuli (Antwerpen, 2006).

Les cellules phagocytaires activées sont le site d'un phénomène appelé « explosion oxydative », qui consiste en l'activation du complexe NADPH oxydase, une enzyme qui peut utiliser l'oxygène moléculaire pour générer de grandes quantités d'anions superoxyde au niveau de la membrane. Lorsque ce mécanisme est maîtrisé, il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers et est donc essentiel dans la lutte contre l'infection (Favier, 2003).

De plus, le système xanthine/xanthine oxydase permet la génération d'anions superoxydes :

xanthine + O₂ + H₂O $\xrightarrow{\text{xanthine oxydase}}$ acide urique + 2O₂ · 2+ · H⁺ (Marfak, 2003).

Autre espèce réactive de l'oxygène produite par l'inflammation est le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Il réagit directement ou produit de l'acide hypochloreux par l'intermédiaire de la myéloperoxydase. Cette espèce (HClO) se caractérise par un pouvoir oxydant nettement plus élevé que H₂O₂.

H₂O₂ + H₂O₂ + Cl⁻ $\xrightarrow{\text{myéloperoxydase}}$ HClO + 2H₂O (Antwerpen, 2006).

L'oxyde nitrique est également produit par le système enzymatique NO synthase (NOS) médié par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages (Favier, 2003).

D'autres systèmes peuvent également générer des ROS. Par exemple: Réactions dans les voies des leucotriènes et des prostaglandines catalysées par les lipoxygénases et les cyclooxygénases (Babior et al., 2002). Les aldéhydes oxydases ou les protéines de l'hème peuvent oxyder le fer(II) pour former des radicaux O₂ en fer(III) (Antwerpen, 2006).

Il s'agit donc d'une autooxydation des monoamines (dopamine, adrénaline, noradrénaline). L'hémoglobine peut également être une source de génération de ROS en présence de métaux traces (Gueye, 2007).

III-2. Production exogène

L'organisme humain est attaqué par diverses substances pouvant générer des radicaux libres. Le rayonnement UV (ultraviolet) induit la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres via des photosensibilisateurs. Les rayonnements ionisants provoquent également la formation de radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso et al., 2007).

Après avoir bu de l'alcool, des radicaux libres sont générés par divers mécanismes (Hadi, 2004).

Les substances toxiques telles que les oxydes d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂) dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels) provoquent l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés dans les alvéoles pulmonaires (Hadi, 2004).

IV. Les marqueurs biologiques de stress oxydant

Une génération excessive de radicaux libres entraîne des dommages directs aux biomolécules.

Les dommages secondaires se produisent non seulement par l'oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides, mais également par les propriétés cytotoxiques et mutagènes des métabolites spécialement libérés lors de l'oxydation des lipides. Ainsi, la détection de dérivés oxydés de ces différents substrats indique la présence d'un stress oxydatif (Cano, 2007).

Tableau 03: Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée (Cano, 2007).

Cible	Produits	Exemples
Protéine	Protéines oxydées	Groupes carbonyle, tyrosine hydroxylée
ADN	ADN oxydé	8-hydroxy-2, déoxyguanosine
Lipides	Lipide peroxydés	Malondialdéhyde (MDA), isoprostanes

V. Les maladies liées au stress oxydatif

Le stress oxydatif est une cause majeure de plusieurs maladies par la production de biomolécules anormales et la surexpression de certains gènes : Cancer, cataracte, sclérose

latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, infection intestinale, rhumatisme, athérosclérose, diabète (Atawodi, 2005 ; Georgetti et al. al., 2003)

VI. Les antioxydants

Les antioxydants sont toutes des molécules capables d'inhiber directement la production, de limiter la prolifération ou de détruire les ERO à faible dose (Favier, 2003).

Il est clair que tous les systèmes biologiques ont développé des mécanismes dans des environnements oxygénés pour contrer les effets potentiellement nocifs des pro-oxydants (Rizzo et al., 2011).

Au niveau cellulaire, deux lignes de défense disproportionnellement puissantes existent pour la détoxification cellulaire :

VI-1. Les antioxydants enzymatiques

L'un des systèmes de défense antioxydant enzymatique est constitué de trois enzymes. superoxyde dismutase SOD, glutathion peroxydase GSH-Px, catalase. Ces enzymes ont des effets complémentaires sur les cascades radicalaires au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant in fine à la production d'eau et d'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al., 2001).

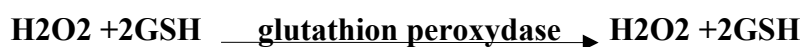


Figure : Réactions enzymatiques de piégeage des espèces réactives oxygénées ERO (Halliwell, 2006)

Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes telles que la peroxirédoxine, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, la thiorédoxine réductase et la thiorédoxine peroxydase.

La plupart de ces enzymes, comme celles qui réparent les dommages oxydatifs, utilisent le donneur équivalent de réduction, le NADPH. Le NADPH est au cœur de la défense antioxydante avec le glutathion **(Favier, 2003)**.

Ce groupe d'antioxydants est constitué de plusieurs composés qui peuvent réagir directement ou indirectement avec les ROS. Les mécanismes indirects comprennent la chélation des métaux de transition, qui empêche la formation de radicaux hydroxyle hautement toxiques **(Kohen et Nyska, 2002)**.

Certains composés antioxydants tels que les vitamines E (tocophérols), C (acide ascorbique), Q (ubiquinones) et les caroténoïdes alimentaires piègent les radicaux libres, piégeant les électrons uniques et les convertissant en molécules ou en ions stables. Les vitamines piègeuses deviennent des radicaux et sont soit détruites soit régénérées par un autre système. Par conséquent, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, qui à son tour est régénérée par l'enzyme ascorbate réductase. Ce type d'antioxydant est appelé scavenger « scavenger » par les anglo-saxons.

De nombreux composés alimentaires peuvent également présenter ce comportement : Polyphénols, alcaloïdes... Il existe également des composés endogènes synthétisés par les cellules qui jouent le même rôle. Le plus important est la forme réduite du glutathion, qui protège non seulement des radicaux oxygénés, mais aussi des peroxydes et du NO• **(Favier, 2003 ; Flora, 2009)**.

VII. l'activité antimicrobienne

En 1929, Alexander Fleming a découvert et démontré des antibiotiques. L'action de la pénicilline a donné le premier espoir que les antibiotiques pourraient être efficaces. Élimination de la pathologie causée par l'infection, mais émergence de résistance des micro-organismes ont contesté cette opinion et soulevé la question de l'échec de l'antibiothérapie. **(Khadir et al ., 2013)**.

Plusieurs études in vitro et in vivo se sont concentrées sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des polyphénol. À l'heure actuelle, cet effet est sans danger et a été prouvé par de nombreuses recherches expérimentales. Des études sur les effets inhibiteurs des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont montré que de nombreux composés flavoniques (épigénine, kaempférol, etc.) ont des effets puissants contre les souches fongiques et diverses

souches Gram-négatives et Gram-positives. (Valsaraj et al., 1997 ; Cowan, 1999 ; Wachter et al., 1999 ; Ulanowska et al., 2007).

Actuellement, la méthode du disque est la méthode d'évaluation de l'activité la plus utilisée.

Dans le cas antibactérien, il consiste à ensemencer une suspension bactérienne sur un milieu gélosé, tel qu'une boîte de Pétri. Un disque de cellulose est ensuite trempé dans la substance à tester et placé sur la boîte de Petri. Pendant l'incubation, la substance diffuse à travers la gélose (en surface et/ou dans la masse), créant un gradient de concentration dépendant de la substance. Figure 1. (Fontanay et al., 2015)

L'activité antibactérienne des extraits de plantes est évaluée par des mesures. Concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI est la plus faible concentration d'extrait pouvant empêcher la croissance bactérienne ou fongique par rapport à la concentration de la substance de référence. (Moumene et al., 2016)

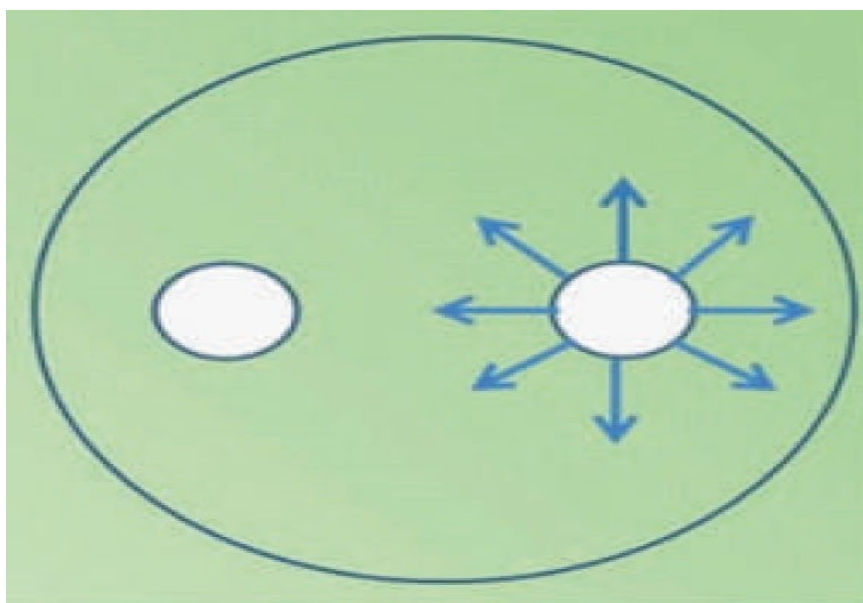


Figure 06: Principe de la diffusion du principe actif « méthode des disques ».

(Fontanay et al., 2015)

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel végétal

I.1.1 Origine géographique et période de récolte

I.1.2 Préparation du Matériel végétal

I.2. Méthodes

I.1.1. Préparation des échantillons

Après récolté le matériel végétal, nous avons procédé au séchage à la température ambiante (20-25°C) pendant plusieurs jours. Après séchage, ils ont été broyées à l'aide d'un broyeur mécanique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, qui est conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité en vue de son utilisation.

I.1.2. Extraction

Les plantes peuvent être utilisées comme matières premières après une transformation appropriée. L'extraction solide-liquide est une méthode couramment utilisée pour récupérer les composés bioactifs des plantes. Dans cette étude, deux méthodes d'extraction différentes, la macération et l'extraction par Soxhlet, ont été utilisées pour obtenir des extraits riches en composés bioactifs tels que les polyphénols. Les rendements d'extraction et les teneurs en polyphénols ont été évalués pour déterminer l'efficacité des méthodes d'extraction. Ces méthodes offrent des possibilités d'utilisation dans la recherche pharmaceutique, la cosmétologie et d'autres applications industrielles. Comparer les rendements d'extraction et les teneurs en polyphénols permet de sélectionner la méthode d'extraction la plus efficace pour obtenir des extraits de qualité contenant des composés bioactifs précieux.

I.1.2.1 Extraction liquide – solide par soxhlet

L'extraction Soxhlet est une méthode d'extraction solide-liquide couramment utilisée. Un échantillon de 60g et 30g et 22g de plante à tester est placé dans une cartouche Soxhlet et mis en contact avec 500 ml et 250 ml de méthanol dans le ballon à 60°C pendant 6 à 7 heures. Le solvant est ensuite évaporé au rotavapeur sous pression réduite à 40°C et l'extrait obtenu est stocké à 40°C dans l'étuve après calcul du rendement (**figure 07**).

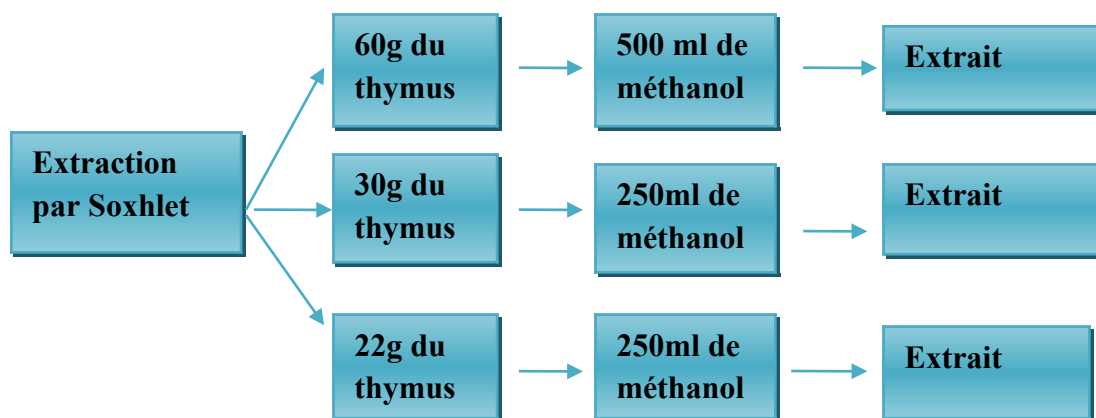


Figure 07: Les étapes d'extraction de la thymus par soxhlet

Extraction liquide-solide par macération

Dans cette partie de travail, nous avons tenté d'extraire les composés polaires de la plante *thymus munbyanus ssp coloratus*. Les solvants utilisés sont le Méthanol et l'eau distillée, qui ont été choisis de manière à solubiliser un maximum de composés.

Le ratio solide : liquide est 1/10 (mg / mL) (Michel, 2011).

L'extraction a été réalisée selon la méthode de Thanabhorn et ses collaborateurs en 2006. 50 g de la poudre de la plante ont été macérés dans méthanol (30%) et l'eau distillée (70%) qui ont été choisis de manière à solubiliser un maximum de composés. Le mélange a été laissé un jours (24h) avec agitation occasionnelle à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après la filtration, le filtrat est soumis à une évaporation 40°C. L'extrait obtenu est

ensuite séché à l'étuve et conservé dans des eppendorfs à 40°C jusqu'à utilisation, Le processus d'extraction est résumé par l'organigramme de la (figure 08).



Figure 08: Les étapes d'extraction de la *thymus* par macération

I.1.3. Détermination du Rendements des extraits secs

Le pourcentage en extrait brut sec a été calculé 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 traiter.

I.1.4. Etude et analyse phytochimique

La première étape a consisté à rechercher les grandes classes de composés impliqués dans le métabolisme secondaire des plantes étudiées. En effet, le criblage phytochimique consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs basés sur les réactions plus ou moins spécifiques de couleur ou de précipitation de chaque classe de principes actifs.

I.1.4.1. Testes photochimiques

I.1.4.1.1. Test des polyphénols (Réaction au FeCl₃)

Pour faire la mise en évidence rapide de polyphénols dans une plante, procéder de la manière suivante :

- Préparer un extrait polyphénolique

Ajouter environ 200 mg de poudre végétale dans un tube à essai de 16 ml. Ajouter un mélange de 2 ml d'eau distillée et 6 ml d'acétone. Placer au bain-marie (maximum 60°C) et cuire environ 5 minutes en agitant de temps en temps. Éviter l'évaporation excessive de l'acétone. Filtrer avec du papier filtre. Recueillir le filtrat dans un tube à essai de 16 ml.

- Réaliser le test de détection des polyphénols (au FeCl₃)

Au filtrat, ajouter 1 ou 2 gouttes de perchlorure ferrique (FeCl₃) à 10%. Observer le précipité noir-vert intense fut le signe de la présence des polyphénols (**Rajeshwar et Lalitha, 2013**).

I.1.4.1.2. Test des flavonoïdes

Macération de quelque gramme de matière végétale dans 10 ml d'AE pendant 3 mn. Mélanger 4 ml de cet extrait avec 1 ml d'une solution d' NH_4OH diluée. Une couleur jaune indique la présence des flavonoïdes (**Rajeshwar et Lalitha, 2013**).

I.1.4.1.3. Test des alcaloïdes

Dans un tube à essais de 16 ml; introduire 200 mg de poudre végétale avec 10 ml d'acide sulfurique (10%) .

- Agiter pendant 2 minutes.
- Partager le filtrat entre 3 tubes (16 ml) :

Test de **Dragendorff** : (Potassium bismuth iodure) Prendre 2 ml de filtrat dans un tube à essai et ajouter une petite quantité du réactif de Dragendorff, donne une précipitation de couleur orange (**Rajeshwar et Lalitha, 2013**).

Test de **BOUCHARDAT**: Prendre 2 ml de filtrat dans un tube à essai et ajouter une petite quantité du réactif de BOUCHARDAT, , donne une précipitation de couleur brun.

Remarque :**Réactif de DRAGENDORFF**

Sous nitrate basique de bismuth..... 0,85 g
Iodure potassium 8 g
Acide acétique glacial 10 ml
Eau distillée..... 70 ml
Chauffer et filtrer sur verre fritté, si nécessaire.

Réactif de BOUCHARDAT

Iode.....2 g
Iodure Potassium.....2g
Eau distillée..... q.s.p100 ml



Figure 09: Les réactifs de test des alcaloïdes DRAGENDORFF et BOUCHARDAT

I.1.4.1.4. Test des coumarins

1^{er} protocole: Infuser de 1g de poudre végétale avec 10 ml d'eau. Prendre de filtrat dans un tube à essai et ajouter 0,5 ml de NH_4OH 10 % dans l'autre tube et placer les 2 sous une lampe UV, La survenance d'une intense fluorescence sous lumière UV (365 nm) indique la présence des coumarins (Yeo et al., 2011).

2^{ème} protocole: 2 g de poudre végétal sont mélangés à 10 ml de CHCl_3 , chauffés quelques minutes, filtrés et l'extrait chloroformique est soumis à une CCM. Le solvant est un mélange toluène /ACEL (90 : 10) se fait en 365 nm.

I.1.4.1.5. Test des anthocyanes

Un volume de 2ml d'infusé aqueux est additionné à 2ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Debray et al., 1971 ; Paris et al., 1969).

I.1.4.1.6. Test des cardinolides

Leur détection est réalisée par prendre 1g de poudre végétale de chaque organe étudier séparément, et macérer dans 20ml d'eau distillée. Prélever 10ml de filtrat et mixe avec 10ml d'un mélange de chloroforme et l'éthanol (5ml /5ml), la couche organique évaporé jusque à la sécheresse et le sédiment se dissout dans 3ml d'acide acétique glacié, puis ajouter quelque gouttes de chlorure de fer (FeCl_3) et suivre directement par 1ml d'acide sulfurique concentré

(H₂SO₄) sur la paroi du tube. L'apparition de couleur vert bleuâtre dans la couche acide indique la présence de cardanolide dans les différents organes (**Tadros, 1979**).

I.1.4.1.7. Test des quinones

Une solution de 1 ml de l'extrait analysé avec quelques gouttes de soude caustique (10% NaOH) vire au jaune, indiquant la présence de quinones (**Edeoga et al., 2005**).

I.1.4.1.8. Test des anthroquinones

Ajouter quelques gouttes de KOH à 10 % à 1 ml de l'extrait à analyser. Après agitation, la solution vire au rouge indiquant la présence d'anthraquinones (**Edeoga et al., 2005**).

I.1.4.1.9. Test des terpénoides

La formation d'un anneau brun rougeâtre à l'interface après avoir mélangé 1 ml de chaque extrait (5 mg/ml) avec 0,5 ml de chloroforme puis 0.7 ml H₂SO₄, confirme la présence de terpénoïdes dans les extraits (**Edeoga et al, 2005**).

I.1.4.1.10. Test des tanins

La présence de tanins est confirmée en ajoutant 1 ml d'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2-3 gouttes de solution diluée de FeCl₃ (1%). L'apparition d'une couleur bleu-noir indique la présence de tanins galliques, et l'apparition d'une couleur verte ou bleu-vert indique la présence de tanins catéchiques (**Trease et Evans, 1987**).

I.1.4.1.11. Test des saponosides

Les saponosides se caractérisent par un indice de mousse. Leur détection est réalisée en prélevant 1 g de chaque partie de l'organe végétal à examiner (Pa et Pr) séparément, en faisant bouillir avec 40 ml d'eau distillée dans un agitateur magnétique à 100°C pendant 15 min, puis en chauffant la solution. Il est fait par Refroidir à 100 °C maximum pour filtration. Plonger dans deux éprouvettes et comparer avec un témoin contenant de l'eau distillée. Agiter chaque tube pendant 1 minute (15 minutes) pour fixer. La formation d'une mousse plus ou moins claire et stable indique la présence de saponines (**Claus, 1967; Balbaa, 1969**).

I.1.5. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux

I.1.5.1. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux peut être réalisée par la méthode de Folin- Ciocalteu **Waterman et Mole (1994)**.

I.1.5.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupement oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

I.1.5.1.2. Méthode

Le dosage des polyphénols totaux par une méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par Singleton et Rossi en 1965. Depuis, son utilisation pour évaluer les propriétés des extraits végétaux s'est généralisée. **(Boizot et Charpentier, 2006)**.

La teneur en polyphénols (PP) a été mesurée par spectrophotométrie, selon le protocole utilisé par Le et ses collègues en 2007. 200 μ l d'extrait de plante contenant 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois avec de l'eau distillée. Après 4 minutes, 0,8 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) sont ajoutés à une concentration de 7,5 g/l. Le mélange réactionnel est incubé à température ambiante dans l'obscurité pendant 2 heures. L'absorption est mesurée à 765 nm.

Figure 10: Protocole de dosage des polyphénols

Une courbe standard est réalisée en utilisant différentes concentrations (0-100 µg/ml) d'acide gallique, dans les mêmes conditions et avec les mêmes pas de test. Les résultats sont donc exprimés en mg d'équivalents acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait). Toutes les mesures sont répétées trois fois.

I.1.5.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) qui est décrite par **Lamaison et Carnat (1991)** et cité par **Bahorun (1997)**.

I.1.5.2.1. Principe

La coloration jaunâtre donnée par cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

I.1.5.2.2. Méthode

Brièvement, ajouter 1 ml d'extrait à 1 ml d' AlCl_3 (2 %). Après 10 minutes de réaction, lire l'absorbance à 430 nm.

Une courbe standard est générée en utilisant différentes concentrations (0-40 µg/ml) de quercétine dans les mêmes conditions et étapes de test. Les résultats sont exprimés en mg équivalents de quercétine par g d'extrait (mg EQ par g d'extrait) (**Chia-chi et al., 2002**).

Figure 11: Protocole de dosage des flavonoïdes

I.1.6. Evaluation de l'activité antioxydante par le DPPH

Etude de pouvoir réducteur du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-PicrylHydrazil)

I.1.6.1. Principe

La méthode du DPPH• est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (HA) pour former la forme non radicalaire DPPH-H. Plus la perte de couleur est rapide, plus le donneur d'hydrogène est susceptible d'être un puissant antioxydant (**Belmokhtar, 2015**).

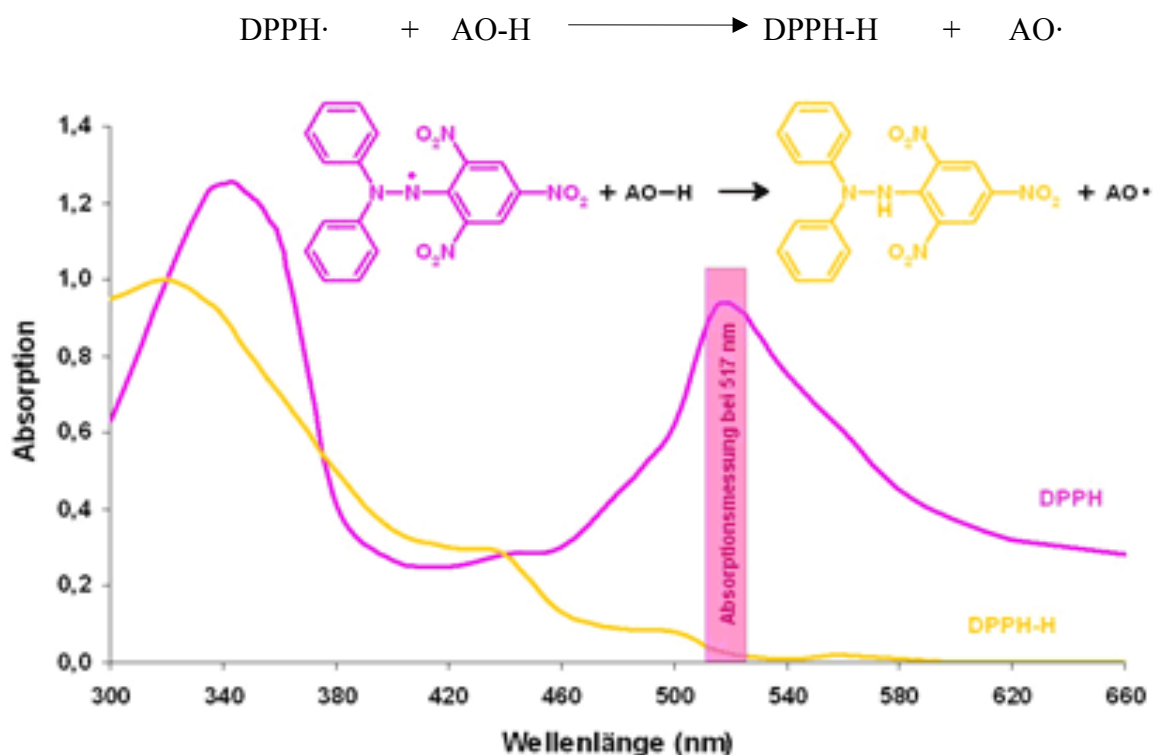


Figure 12: Forme active à la Schéma de conversion du DPPH de la forme inactive

(Matkowski et al., 2008).

I.1.6.2. Protocol

100 μl de différentes concentrations d'extrait sont ajoutés à 2500 μl d'une solution méthanolique de DPPH (0,04 mg/ml). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, les résultats d'absorbance sont mesurés à 517 nm contre un blanc et un contrôle.

Figure 13: Protocole du test de piégeage du radicale

Le taux d'inhibition est calculé par la relation suivante :

$$\% d'inhibition = [A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}} / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

A contrôle : Absorbance du DPPH en absence de l'extrait après 30 minute.

A échantillon : Absorbance du DPPH en présence de l'extrait après 30 minute.

L'IC₅₀ est défini comme étant la concentration de l'extrait qui fait l'inhibition de 50 % de DPPH. , comparé avec celui d'un antioxydant standard (acide ascorbique) (**Shen et al., 2016**).

I.1.7. Evaluation de l'activité antibactérienne

Le teste est réalisé au niveau du laboratoire d' Institut Pasteur de M'sila.

L'évaluation de l'activité antimicrobinne a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé des disques. (**Bendif 2017**).

Les souches bactérienne choisies de ATCC (American Type Culture Collection):

Escherichia coli (ATCC 337) de gram négative, Staphylococcus aureus (ATCC 653bp) de gram positive.

I.1.7.1. Principe

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits de *Thymus munbyanus* ssp *coloratus*, on a adopté la méthode de diffusion en milieu gélosé des disques. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri, et permet de mettre en évidence l'effet antibactérien des extraits sur les bactéries (figure 31), ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des extraits (Mayachiew et Devahastin., 2008).

I.1.7.2. Protocole

I.1.7.2.1. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des suspensions bactériennes (Inoculums) ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons, ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

I.1.7.2.2. Choix des micro-organismes

Les différents extraits de plantes ont été testés sur des micro-organismes comprenant des bactéries (*Escherichia coli* de gram négative et *Staphylococcus aureus* de gram positive).

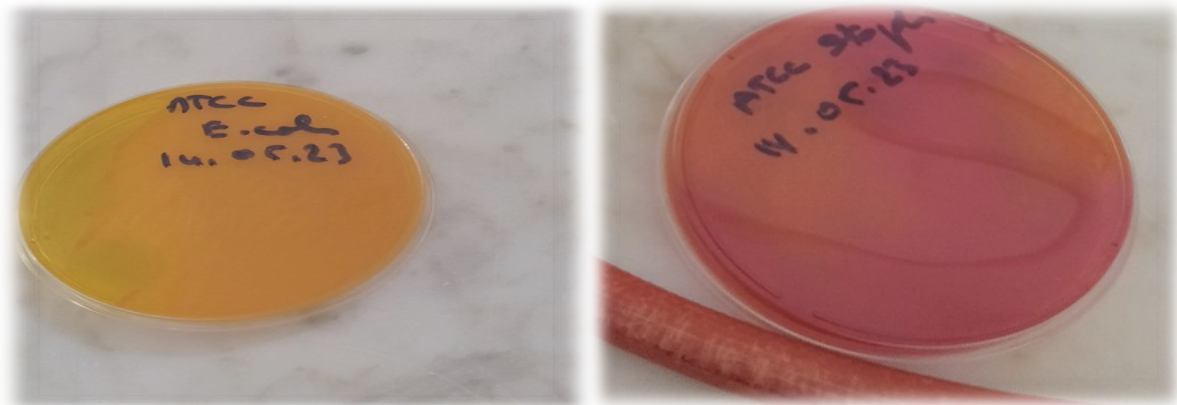


Figure 14: Les micro-organismes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

I.1.7.2.3. Préparation des suspensions

À partir des cultures bactériennes jeunes, une à deux colonies bien isolées et parfaitement identiques sont inoculées dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % de Na Cl. La suspension microbienne ainsi préparée, est bien homogénéisée et ajustée à une turbidité qui correspond au 0,5 Mc Farland (**Ruiz et al., 2011**) à l'aide d'un densitomètre .



Figure 15: Les bactéries préparés

I.1.7.2.4. Préparation des milieux

Après la fonte de la gélose au bain marie à 100°C, pendant 30 min, nous avons coulé une couche de 02 mm d'épaisseur dans des boites de pétri de 90 mm de diamètre. Ces dernières sont mises au réfrigérateur a une température de 4°C pendant 1h, avant leur emploi.

I.1.7.2.5. Préparation des extraits

Dans une tube essais contenant 200 mg les extraits secs de *thymus munbyanus ssp coloratus*; à l'aide d'une micropipette; nous avons rajouté à chaque extrait 2 ml de DMSO et agitons les deux solution à partir d'une agitateur vortex.



Figure 16: Mesure des extraits

Les solutions ainsi obtenus sont considérées comme solution mère pour préparé une série de dilution de demi ($1/2$) afin d'obtenir les différentes concentrations suivantes: 100mg/ml (solution mère), 50mg/ml, 25mg/ml, 12.5mg/ml.

De chaque tube essais, nous avons pris 1 ml de ces solutions à laquelle est ajouté 1 ml de DMSO.

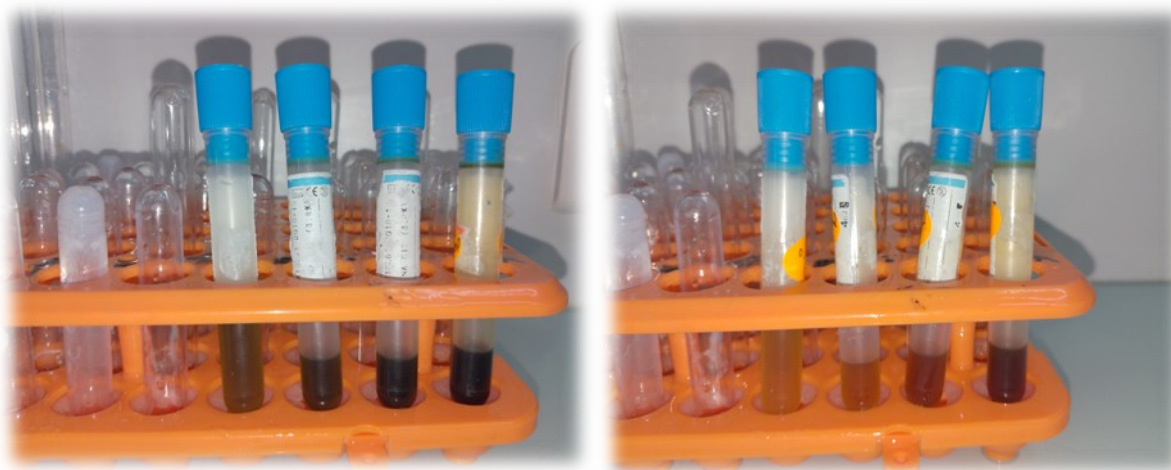


Figure 17: Séries des dilutions des extrait

I.1.7.2.6. Ensemencement

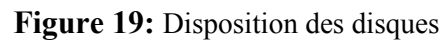
Cette opération se fait après le coulage de gélose (MH) stérile dans des boîtes de pétri avec une épaisseur de 4 m, après la préparation de la suspension bactérienne dans laquelle un écouvillon a été trempé, toute la surface de la gélose est étalée trois fois en tournant la boîte à chaque fois à environ 60° afin qu'on puisse écouvillonner partout autour du bord de la surface de la gélose. Le but de chaque application est d'avoir une distribution uniforme de l'inoculum. Finalement, les boîtes ont été fermées et laissées à côté .



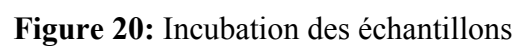
Figure 18: L'ensemencement des bactéries

I.1.7.2.7. Disposition des disques

Les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen. Ensuite, par une micropipette stérile les disques sont imprégnés par chaque d'extrait « 10µl dans chaque disque » et le DMSO au centre comme un témoin négatif.



Après dépôt des extraits, les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse en mm. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition **(Hamidi, 2013)**.



Chapitre II : Résultats et discussion

Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons et analysons les résultats obtenus à partir des tests phytochimiques et de l'activité antibactérienne des extraits végétaux.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les propriétés phytochimiques des extraits de plantes et leur activité antibactérienne potentielle. Pour cela, nous avons effectué des tests phytochimiques afin de détecter la présence de métabolites secondaires spécifiques dans les extraits. De plus, nous avons évalué l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits en utilisant des méthodes standardisées.

Dans ce chapitre, nous présenterons les résultats des tests phytochimiques, en mettant l'accent sur la détection et la quantification des métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones, les anthroquinones, les terpénoïdes, les tanins et les saponosides. Ainsi, nous discutons des résultats obtenus pour chaque métabolite, en mettant en évidence les plantes qui ont présenté des concentrations élevées de ces composés.

De plus, nous avons examinés les résultats de l'activité antibactérienne des extraits végétaux. En traitant les zones d'inhibition observées pour chaque concentration d'extrait testée, en mettant en évidence les extraits qui ont montré une activité antibactérienne significative contre les souches bactériennes ciblées. Nous discuterons des implications de ces résultats en termes de potentiel thérapeutique des extraits végétaux pour le traitement des infections bactériennes. D'autre part, les activités antioxydante, notamment le piégeage des radicaux libres DPPH, ont été testé afin que nous puissions évaluer le potentiel réducteur des métabolites secondaires.

I. Rendement

Nous avons déterminé le rendement moyen des extractions à partir des extraits de plante *thymus* obtenus par extraction Soxhlet (utilisant du méthanol) et par macération (utilisant du méthanol et de l'eau). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 04: Rendements des extraits en pourcentage par rapport au poids total.

Type d'extrait	Rendement %
Méthanolique	14.9%
Aqueux	16.96



Figure 21: l'aspect des extraits de Soxhlet et de macération

Les résultats du tableau indiquent que le rendement en extrait de la plante *Thymus mannbyanus ssp coloratus* est de 14,9 % et 16,96 % respectivement. Ainsi, il est clair que le rendement obtenu par la méthode d'extraction par macération est supérieur à celui obtenu par la méthode d'extraction Soxhlet.

Les résultats indiquent que la méthode de macération a donné un meilleur rendement d'extraction par rapport à la méthode d'extraction par Soxhlet. Cela peut être attribué aux principes de base des deux méthodes. La macération implique une extraction à froid, où le solvant est en contact prolongé avec la matière végétale, permettant une diffusion lente des composés actifs. D'autre part, l'extraction par Soxhlet implique une extraction à chaud et en

continu, où le solvant est régulièrement évaporé et condensé, permettant une extraction plus efficace des composés.

Cependant, malgré le rendement plus élevé de la macération, il est intéressant de noter que l'extrait obtenu par soxhlet a présenté une teneur plus élevée en polyphénols. Cela suggère que la méthode d'extraction peut influencer la quantité de polyphénols extraits des plantes. Il est possible que l'extraction par soxhlet ait permis une solubilisation plus efficace des polyphénols dans le solvant utilisé, conduisant ainsi à une concentration plus élevée dans l'extrait final.

Par conséquent, il est important de prendre en compte à la fois le rendement d'extraction et la teneur en composés actifs lors du choix de la méthode d'extraction appropriée. Si le rendement est la principale préoccupation, la macération peut être préférée. Cependant, si la concentration des composés actifs, tels que les polyphénols, est plus importante, l'extraction par soxhlet peut être privilégiée.

Il convient également de noter que d'autres facteurs peuvent influencer les rendements d'extraction, tels que la nature de la matière végétale, la granulométrie, la durée d'extraction et le choix du solvant. Ces paramètres peuvent être optimisés pour améliorer les rendements et la qualité des extraits obtenus.

II. Composition chimique

II.1. Screening phytochimique

L'analyse qualitative des poudres végétales vise à détecter la présence de métabolites secondaires spécifiques à l'aide de caractérisation qualitative. Ces réactions reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration en utilisant des réactifs spécifiques répertoriés dans le tableau.

Tableau 05 : Résultats du screening phytochimique des plantes étudiées.

Familles chimiques recherchée	Tests phytochimiques	Résultat
Polyphénols	Test FeCl ₃	+++
Flavonoïdes	NH ₄ OH	+++
alcaloïdes	Test de Dragendorff	-
	Test de BOUCHARDAT	-
Coumarins	NH ₄ OH	-
	CH Cl ₃	-
Anthocyanes	L'ammoniac	-
Cardinolides	H ₂ SO ₄	-
Quinones	NaOH	+
Anthroquinones	KOH	-
Terpenoides	H ₂ SO ₄	++
Tanins	FeCl ₃	+++
Saponosides	Test de mousse	+

(+) : Présence faible ; (+++) : Présence forte

(++) : Présence moyenne ; (-) : Absence.

Polyphénols

Une observation importante dans notre étude concerne la présence de polyphénols dans la plante étudiée. Lorsque nous avons effectué des tests de caractérisation qualitative, nous avons noté une précipitation d'une couleur noir-vert, ce qui est un indicateur clair de la présence de polyphénols. Cette réaction de précipitation, visualisée dans la figure, est spécifique aux polyphénols et permet de les identifier.

Flavonoides

Une autre classe de métabolites secondaires étudiée était les flavonoides. Les flavonoides sont connus pour leurs propriétés bénéfiques pour la santé et leur rôle dans la pigmentation des plantes. Lorsque nous avons effectué les tests pour détecter les flavonoides dans notre plante, nous avons observé un changement de couleur significatif. Une couleur jaune clair est apparue, ce qui est un indicateur fiable de la présence de flavonoides. Cette réaction de coloration est spécifique aux flavonoides et nous permet d'identifier leur présence dans notre échantillon végétal.

Alcaloïdes

Pour les résultats de test des alcaloïdes, nous ne remarquons pas l'apparition d'une précipitation de couleur orange (Test de **Dragendorff**) ou une précipitation de couleur brun (Test de **BOUCHARDAT**).

Coumarins

Dans nos deux protocoles, nous avons observé l'absence de fluorescence sous une lumière UV de 365 nm, ce qui indique clairement l'absence de coumarines.



Figure 22: Test des anthocyanes

Cardénolides

Les résultats de l'analyse physico-chimique ont révélé la couleur vert bleuâtre, indiquant ainsi l'absence de cardénolides dans les échantillons étudiés.

Quinones

L'apparition d'une couleur jaune témoigne de la présence de quantités faibles de quinones dans nos échantillons.

Anthraquinones

En ce qui concerne les anthraquinones, nous avons observé la disparition de la couleur rouge, ce qui indique leur absence dans nos échantillons.

Terpénoides

La formation d'un anneau brun à l'interface confirme la présence de terpénoides dans les extraits analysés.

Tanins

La présence de tanins a été confirmée par l'apparition d'une couleur bleue lors des tests phytochimiques.

Saponines

Nous avons observé la formation d'une mousse légère (voir figure), ce qui indique la présence de saponines dans notre plante étudiée.

Les résultats obtenus indiquent que les plantes étudiées sont plus ou moins riches en métabolites secondaires. Les tests phytochimiques réalisés nous ont permis d'obtenir un aperçu général de la composition chimique de ces plantes.

Le screening phytochimique des deux méthodes d'extraction, la macération et l'extraction par soxhlet, a permis d'évaluer la présence et la diversité des métabolites secondaires dans les extraits obtenus. Il s'agit d'une étape essentielle pour déterminer la composition chimique des plantes et identifier les principaux composés actifs.

Dans le cas de la macération, les résultats du screening phytochimique ont montré la présence de différents groupes de composés, tels que les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tanins, les terpènes et les flavonoïdes. Ces composés sont connus pour leurs propriétés bioactives et leur potentiel thérapeutique. La macération a permis une extraction globale des métabolites présents dans la matière végétale, ce qui a conduit à une large gamme de composés détectés.

D'autre part, l'extraction par soxhlet a également révélé la présence de différents groupes de composés lors du screening phytochimique. Cependant, il est intéressant de noter que la méthode d'extraction par soxhlet a montré une teneur plus élevée en polyphénols, ce qui suggère une extraction plus efficace de ces composés par cette méthode.

II.2. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits bruts des plantes étudiées est déterminée par la méthode de Folin Ciocalteu, en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme étalon (Fig). Les teneurs sont exprimées en μg équivalent acide gallique/mgd'extrait (μg EAG/mg d'extrait), et déterminé par l'équation de type : $y=0.007 x+0.008$ sachant que $R^2=1$.

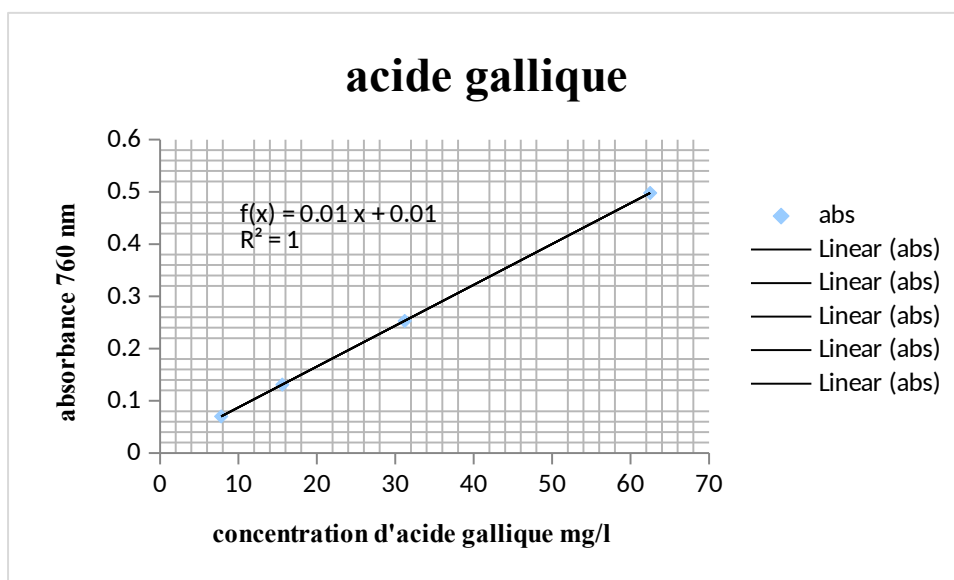


Figure 23: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *thymus Munbyanus ssp coloratus*, exprimés en mg équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mgEAG/g d'extrait), sont présentés dans le tableau :

Tableau 06 : Teneur des extraits en polyphénols totaux

Teneur en polyphénols (mg EAG /g d'extrait)	Les extraits
325.93	Méthanolique
266.86	Aqueux

II-3. Dosage de flavonoïdes :

La mesure des taux de flavonoïdes contenus dans l'extrait a été synthétisée à partir de la droite de la courbe d'étalonnage de la quercétine à différents concentration (figure)

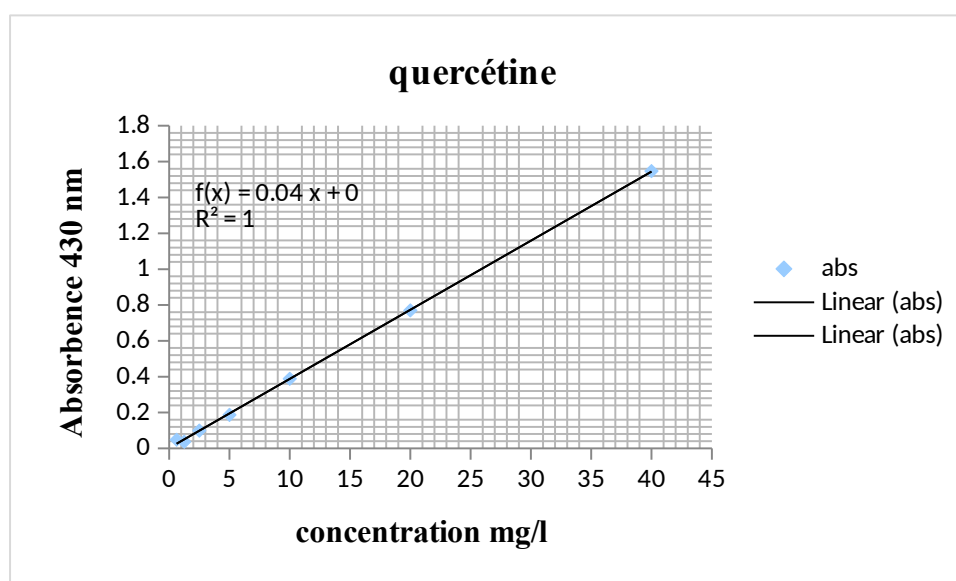


Figure 24: droite de la courbe d'étalonnage de la quercétine

La densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 430nm et la teneur en flavonoïdes des deux extraits a été calculée selon la formule suivante: $y=0.038x+0,002$, $R^2=0,999$ obtenu à partir de la ligne droite de la courbe standard de la quercétine.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Teneur des extraits en flavonoïdes

Teneur en flavonoïdes (mg EQ /g d'extrait)	Les extraits
134.13	Méthanolique
124.79	Aqueux

Le dosage des polyphénols totaux permet de quantifier la teneur de ces composés bioactifs dans les extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction, à savoir la macération et l'extraction par soxhlet. Ce dosage fournit une mesure de la concentration des polyphénols présents dans les extraits et permet de comparer la capacité des deux méthodes à extraire ces composés.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont révélé que l'extrait obtenu par la méthode d'extraction par soxhlet présentait une teneur plus élevée en polyphénols par rapport à l'extrait obtenu par la macération. Cette observation suggère que l'extraction par soxhlet a été plus efficace pour solubiliser et extraire les polyphénols de la matière végétale étudiée.

La teneur élevée en polyphénols dans l'extrait obtenu par soxhlet est importante car les polyphénols sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et leurs effets bénéfiques pour la santé. Ils sont impliqués dans la protection contre le stress oxydatif, l'inflammation et diverses maladies.

Cependant, il est également pertinent de noter que la macération a donné un rendement d'extraction plus élevé que l'extraction par soxhlet, comme mentionné précédemment. Bien que le rendement d'extraction soit important, il ne reflète pas nécessairement la teneur en composés actifs spécifiques, tels que les polyphénols. Ainsi, bien que la macération ait donné un rendement global supérieur, l'extraction par soxhlet a permis d'obtenir une teneur plus élevée en polyphénols, ce qui est d'un intérêt particulier dans le contexte de la recherche sur les propriétés antioxydantes et les applications thérapeutiques des extraits végétaux.

II. Activité antioxydante

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour le standard ou pour les deux extraits testées.

IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant 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)

Tous les extraits des deux plantes et les standards ont un pouvoir anti-radicalaire vis-à-vis du DPPH. Le standard acide ascorbique présente une meilleure activité anti-radicalaire (IC₅₀ égale 28µg/ml)

En comparant les IC₅₀ des différents extraits testés de la *thymus munbyanus ssp coloratus* par rapport de l'acide ascorbique, nous remarquons une activité antioxydante élevée pour l'extraits de soxhlet comparativement à celle des extraits de macération.

III-1. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'acide ascorbique

L'antioxydants standards est utilisé : l'acide ascorbique. Il a montré que l'activité antioxydante est importante présentant des IC₅₀ de l'ordre de 0.028 mg/mL (28µg/mL).

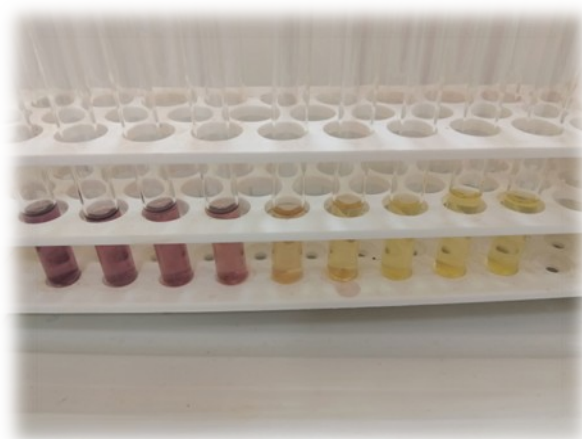
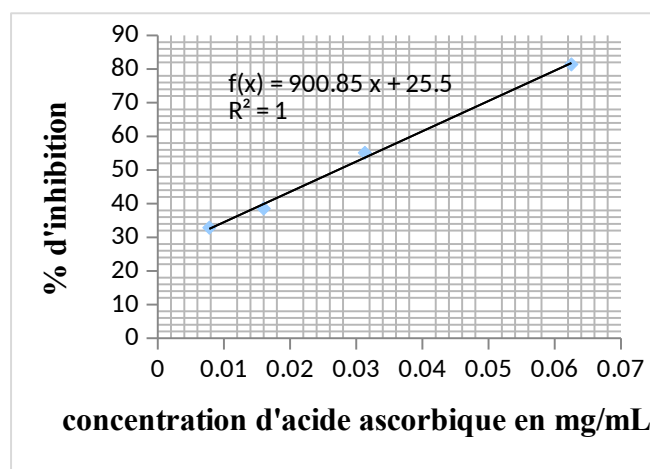


Figure 25: Inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique.

III-2. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour les extraits

L'extrait brut de macération a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH très important avec un pourcentage d'inhibition élevé à de faibles concentrations à la différence de l'extrait brut de soxhlet qui présente des pourcentages d'inhibition faibles. Une concentration

2mg/mL de l'extrait de macération produit un pourcentage d'inhibition de 90% alors qu'une même concentration d'extrait de ne produit qu'un pourcentage d'inhibition égal à 84%.

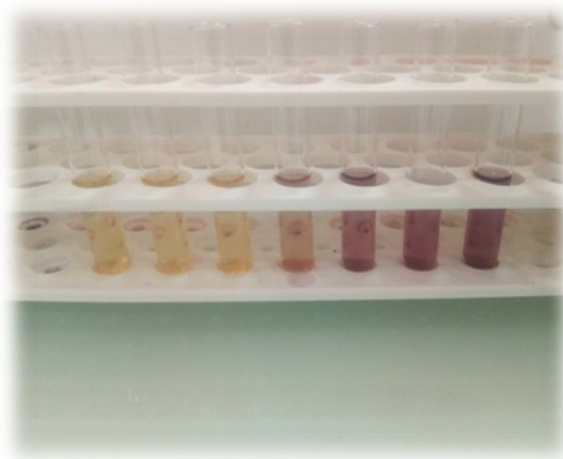
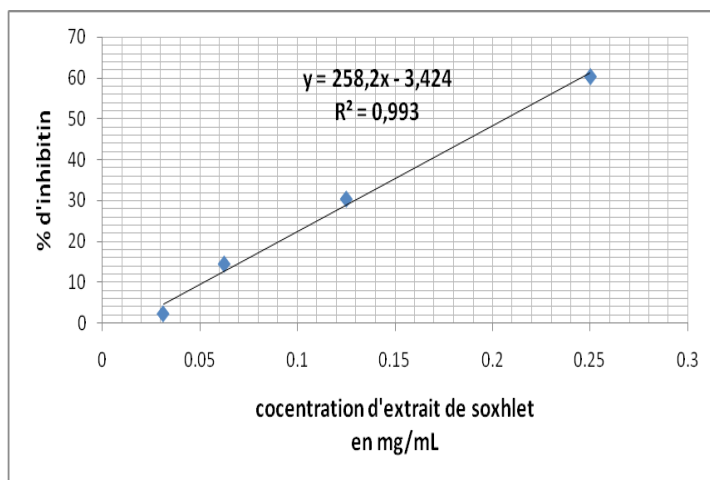


Figure 26: Inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les extraits de Soxhlet

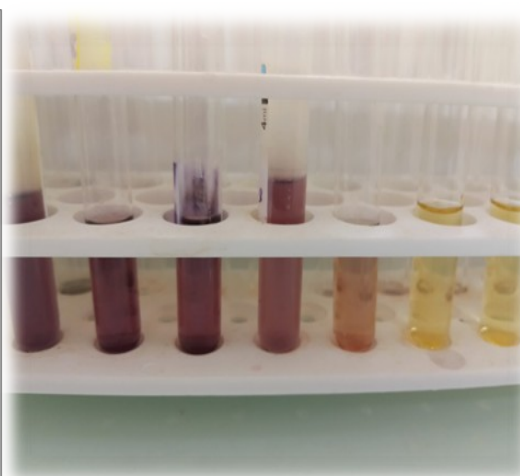
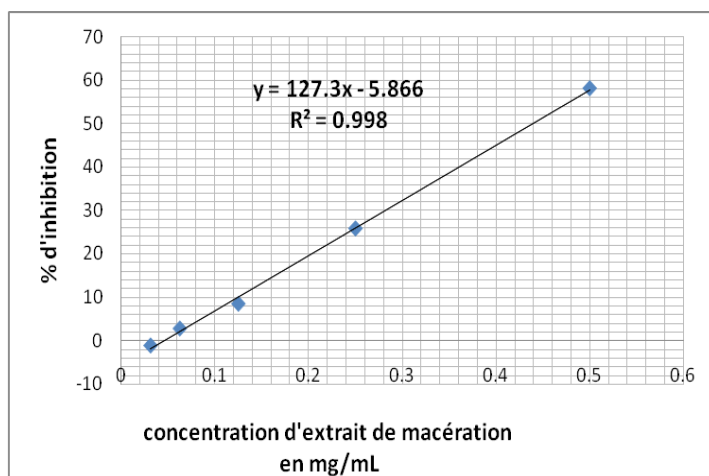


Figure 27: Inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les extraits de macération

III-3. Calcul des IC₅₀

La capacité antioxydante de nos différents extraits est déterminée à partir des IC₅₀, paramètres couramment utilisés pour mesurer l'activité antioxydante. C'est la concentration en extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH dans une période de temps définie.

Une valeur faible d'IC₅₀ correspond à une activité antioxydante plus élevée de l'extrait (**Prakash et al., 2007**). Les IC₅₀ sont donc calculés à partir des graphes représentées sur les figures.

Les valeurs des IC₅₀ trouvées pour les deux extraits testés sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 08: Valeurs des IC₅₀ trouvées pour les extraits des deux extraits étudiée

L'extrait	IC ₅₀ (µg/ml)
Soxhlet	206
Macération	429
Acide ascorbique	28

Les résultats de l'activité antioxydante obtenus sont en accord avec ceux de **Khaled Khodja et al. (2014)**, qui montrant l'activité antioxydante des extraits méthanoliques (soxhlet) de *thymus Munbyanus ssp coloratus* (206 µg / mL), aussi les travaux de **Makni et al. (2013)** sur *thymus Munbyanus ssp coloratus* ont démontré que les extraits du méthanol ont des activités antioxydantes plus élevées que nos extraits aqueux (macération 429 µg / mL).

D'après la comparaison de notre résultat avec les résultats de **KHOLKHAL F.** avec même genre **Tableau** (*Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus*), nous remarquons que notre extrait contient des IC₅₀ moins que son extrait alors une activité antioxydante plus élevée

Tableau 09: Valeurs des IC₅₀ trouvées pour les extraits des deux parties pour les deux plantes étudiée (**KHOLKHAL F.**).

Plantes	et	partie étudiées	IC ₅₀ exprimées en mg/mL
ssp coloratus		Partie aérienne	1,07
		Racine	5,75
ssp euciliatus		Partie aérienne	0.73
		Racine	1.05

IV. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode permet de déterminer l'effet de différents extraits dissous dans du DMSO sur différentes souches de micro-organismes. Il en résulte l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier pré-imprégné de l'extrait. Le tableau montre les résultats de l'évaluation antibactérienne de l'extrait. Ce tableau montre les valeurs de zone ou de diamètre (mm) d'inhibition de la croissance microbienne.

Tableaux 10: Zones d'inhibition des extraits

	Extrait de soxhlet					Extrait de macération				
	SM1	1/2	1/4	1/8	TM	SM2	1/2	1/4	1/8	TM
E.ch	11	10	10	9	7	9	9	9	9	8
Su	12	11	10	8	8	10	9	8	8	7

Nous avons remarqués un bon pouvoir antibactérien dans la souche Su par rapport d'autre souche étudiée (*E. coli*).

L'activité antibactérienne des extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction, soit le soxhlet et la macération, a été évaluée en utilisant deux souches bactériennes, *E. coli* et Su.

Les résultats ont montré que l'extrait obtenu par la méthode d'extraction par soxhlet a présenté une zone d'inhibition de 12 mm contre la souche *E. coli*, tandis que pour la souche Su, la zone d'inhibition était de 9 mm. En comparaison, les extraits obtenus par macération ont montré une activité antibactérienne moins prononcée, avec des zones d'inhibition potentiellement plus petites.

Ces résultats suggèrent que l'extrait obtenu par soxhlet a une activité antibactérienne plus importante que celui obtenu par macération. Cela peut être dû à une meilleure extraction des composés actifs, y compris des substances antibactériennes, par la méthode de soxhlet.

Il est important de noter que la sensibilité des souches bactériennes peut varier, et les résultats peuvent être influencés par divers facteurs, tels que la concentration de l'extrait utilisé et la méthodologie de l'essai d'activité antibactérienne. Par conséquent, il est nécessaire de prendre en compte ces facteurs lors de l'interprétation des résultats.

Il convient également de souligner que l'activité antibactérienne des extraits peut être due à la présence de différents composés bioactifs, tels que les polyphénols, les flavonoïdes ou les terpènes, qui sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. La méthode d'extraction utilisée peut influencer la solubilité et l'extraction de ces composés, ce qui peut expliquer les différences d'activité antibactérienne observées entre les deux méthodes.

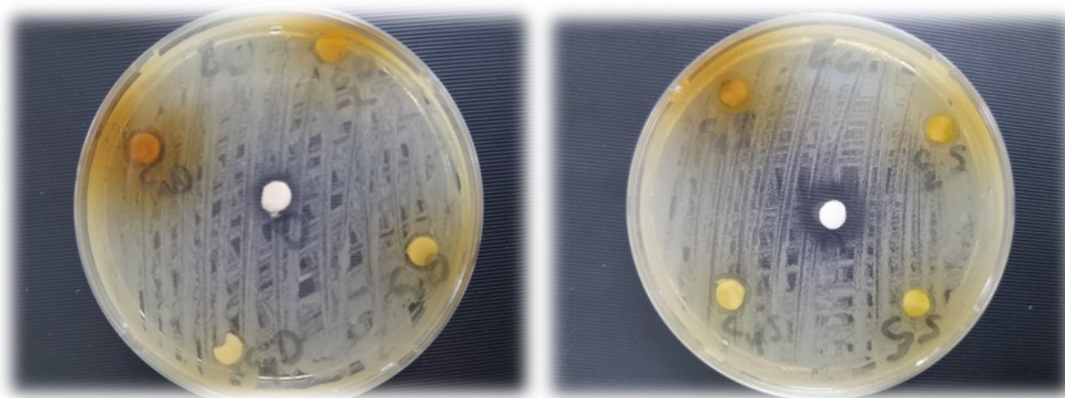


Figure 28 : Zones d'inhibition de la croissance microbienne des extraits sur les *Escherichia coli*

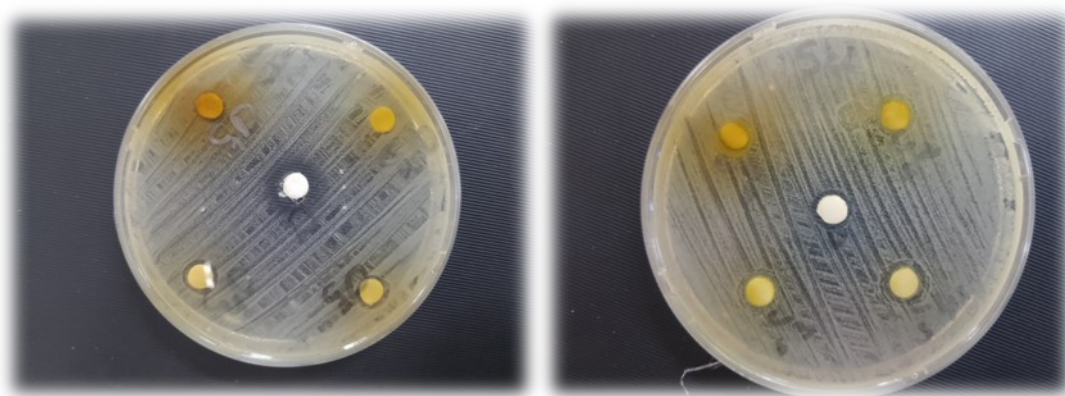


Figure 29 : Zones d'inhibition de la croissance microbienne des extraits sur les *Staphylococcus aureus*

Conclusion:

l'extraction par soxhlet a montré des rendements plus faibles que la macération, mais une teneur plus élevée en polyphénols. De plus, l'extrait de soxhlet a présenté une activité antioxydante et antibactérienne supérieure à celle de l'extrait de macération. Ces résultats soulignent l'efficacité de la méthode de soxhlet pour obtenir des extraits riches en composés actifs. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour approfondir la compréhension de ces extraits et leur potentiel d'application future.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce mémoire a permis d'étudier les plantes médicinales endémiques d'Algérie, en se concentrant sur le *Thymus munbyanus* ssp. *coloratus*, largement utilisé à des fins thérapeutiques et culinaires par la population locale. Les tests phytochimiques ont révélé la présence de polyphénols, qui sont des composés bioactifs importants.

Les résultats ont montré que la méthode de macération a donné un meilleur rendement d'extraction par rapport à la méthode d'extraction par soxhlet. De plus, l'extrait obtenu par soxhlet a présenté une teneur plus élevée en polyphénols. Cela suggère que la méthode d'extraction peut influencer la quantité de polyphénols extraits des plantes.

Par ailleurs, l'extrait obtenu par soxhlet a également montré une bonne activité antioxydante. Cela indique que cet extrait possède des propriétés bénéfiques pour lutter contre le stress oxydatif, qui est impliqué dans de nombreuses maladies et processus de vieillissement.

Ces résultats soulignent l'importance de choisir la méthode d'extraction appropriée pour maximiser le rendement et la teneur en composés actifs des plantes médicinales. De plus, ils mettent en évidence le potentiel des plantes médicinales endémiques d'Algérie, telles que le *Thymus munbyanus* ssp. *coloratus*, en tant que source de principes actifs et d'antioxydants naturels.

Ces découvertes contribuent à l'enrichissement des connaissances dans le domaine de la phytochimie et ouvrent la voie à de futures recherches sur l'utilisation des plantes médicinales endémiques d'Algérie dans le développement de nouveaux médicaments et produits thérapeutiques.

Références bibliographiques

A

- Abderrazak M. et Joël R. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 2007. pp 177.
- Adwan, G. B, Abu-Shanab. F, Adwan. and F, Abu-Shanab., (2006) .Antibacterial Effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas Aeruginosa*-Turk. J Biol30 ,239– 242
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases, *Revue du Rhumatisme*, 2007, 74, 636–643.
- Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., ... and Chaouch, A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*. 9(3), 149
- Antwerpen P-V. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase /peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de Doctorat .Université libre de Bruxelles. 2006 pp 122
- Atawodi S. E. Antioxidant potential of African plants.*African J. of Biotec.* 2005, Vol.4 (2); pp 128-133.
- Atefeibu E.S.I. Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'*Acacia Nilotica* Var *Andesonii* .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar. 2002 pp 33

B

- Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y. Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root
- Babior B-M ., Lambeth J-D ., Nauseef W. The neutrophil NADPH Oxidase. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 397 pp 342-344
- Baborun T., (1997). Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source d'approvisionnement potentielle. *Food Agric. Res.* N° Special: 83-95
- Balbaa, S.I. (1969). Medicinal Plant Constituent. Vol. I. Cairo University Press, 92
- Suspension Cultures. *Molecules*. 2007, Vol. 12 ; pp 607-621.
- Bekhechi, C., Bekkara, F. A., Abdelouahid, D. E., Tomi, F., and Casanova, J. (2007). Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*. 19(6), 594-596.

Références bibliographiques

- Belmalha, S., El Idrissi, M., Amechrouq, A., and Echchgadda, G. (2015). Caractérisation chimique de certaines espèces de Thym Marocain du moyen Atlas (region de Midelt). Glob J
- Belmokhtar. 2015. Identification et caractérisation des molécules du métabolisme secondaire de Retama monosperma. L Boiss, intérêt pharmaceutique. Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, 97p. Pure App Chem. 3(2), 43-52
- Benchabane, O., Hazzit, M., Baaliouamer, A., Mouhouche, F. (2012). Analysis and Antioxidant Activity of the Essential Oils of Ferula vesceritensis Coss. et Dur. and Thymus munbyanus Desf. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. 15, 774-781.
- Bendif H. (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques lamiaceae: Ajugaiva(l.) shreb., Teucrium poliuml., Thymus munbyanus subsp. Coloratus (boiss. & reut.) greuter & burdet et Rosmarinus eriocalyx jord & fourr. Thèse de doctorat. L'école Normale Supérieure de Kouba. Alger.
- Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M. D., Biqiku, L., Bramucci, M., Lupidi, G., ... et Maggi, F. (2017). Essential oil of Thymus munbyanus subsp. coloratus from Algeria: Chemotypification and in vitro biological activities. Chemistry and biodiversity.14(3), e1600299.
- Beta, T; Nam, S; Dexter, J.E; Sapirstein, H.D. Phenolic content and antioxidant activity of pearled ulreat and roller – milled fractions, Creal Chem: 2005, pp 390 -393.
- Boizot, N ; Charpentier, J.P. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiens, prairiaux et aquatiques, INRA, 2006, pp 79-82.
- Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Flleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barosso J.G., Pedro L.G. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian Thymus capitatus Hoff.et Link. Food Chemistry; 2007, Vol. 105; pp 146-155
- Bousmaha-Marroki, L., Atik-Bekkara, F., Tomi, F., Casanova, J. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of Thymus ciliatus (Desf.) Benth. ssp. euciliatus Maire from Algeria. Journal of Essential Oil Research, 19(5), 490-493

Références bibliographiques

- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igic, R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), Food Chemistry, 2008, Vol. 111; pp 925–929.
- Bruneton, J, (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.). Paris: Lavoisier, 2009. 1289 p
- Bruneton, J. Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, 1999 pp 1120.
- Bruneton. J., Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médecinales, 3e edition, Edition Lavoisier TEC et DOC, 1999.

C

- Cano N., Barnoud D., Schneider SM., Vasson MP., Hasselmann M., Leverve X. Traité de nutrition artificielle de l'adulte 3ème édition, 2007, XVII, pp 1189.
- Carange, J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ? (Doctoral dissertation, Université du Québec à TroisRivières).
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3).
- Claus, E.P. (1967). Pharmacognosy. 5th Ed. Henry Kimpton, London, 29. 30.
- Cosentino, S, C. I, G, Tuberoso. B, Pisano. and M, Satta. , (1999). In Vitro Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Sardinian Thymus Essential Oils.” Letters in AppliedMicrobiology29. 130–135.
- Cowan, M.M., 1999, Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12 (4) : p 564-570.

D

- Dacosta Y. Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed).Paris. 2003, pp 317
- Debray M, Jacquemin H, Razafindrambo R. Travaux et documents de l'Orstom. (Paris, N°8). 1971
- Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., Chelghoum, C. (2006). Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. International Journal of Aromatherapy. 16(2), 95-100.

E

- Ebrahimi, S. N, J. H, Mirjalili, and A, Sonboli., (2008).Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of Thymus Caramanicusat Different Phonological Stages.Food Chem. 10: 1016.
- Edeoga, H.O., Okwu, D.E. and Mbaebie, B.O. (2005) Phytochemical Constituents of Some Nigerian Medicinal Plants. African Journal of Biotechnology, 4, 685-688.

F

- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies. 2008, Vol. 331 ; pp 372-379.
- Favier, A. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité en chimie, 2003, pp 108-115.
- Flora SJS. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. Oxi Med Cel Long. 2009, Vol.2 : (4) ; pp 191 – 206.
- Fontanay, S., Mougenot, M.-E., & Duval, R. E. (2015). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. Hegel, N° 2(2), 109.

G

- Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. AAPS Pharm Sci. 2003, Vol. 5 (2): pp 5.
- Goetz, P., and Ghedira, K. (2012). Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. Phytothérapie anti-infectieuse.193-208
- Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. J Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2006, Vol. 41 ; pp 1220-1234.

Références bibliographiques

- Gueye P-M. Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-erythrocytaire sur le globule rouge .Thèse de Doctorat.Université Louis Pasteur Strosbourg. 2007, pp 247.
- Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R. Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole. 2005, pp : 554-558.

H

- Hadi, M. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine: Pharmacochimie, Université Strasbourg I, 2004, pp155.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, Ed 4. Oxford : Clarendon Press ; 2006.
- Hamidi A, 2013. Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrumguyonianum*. Diplôme de Magister en chimie organique université Kasdi Merbah Ouargla. P 63-64.
- Haraguchi H., Saito T., Ishikawa H., Date H., Kataoka S. Tamura Y., Mizutani K., *Planta Med.*, 1996, 62, 217.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M. L., Miguel, M. G. (2006). Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54(17), 6314-6321.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A. R., Faleiro, M. L., and Miguel, M. G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry*. 116(3), 714721.
- Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.* 2004, Vol. 1 ; pp 3 – 6.

I

- Ismaili H., Tortora S., Sosa S., Fkih -Tetouani S., Ilidrissi A., Della Loggia R., Tubaro A., Aquino R., *J. Pharm. & Pharmacol.*, 2001, 53, 1645.

Références bibliographiques

- 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(13) : 1857-7431.

K

- Kansole, M.M.R. Etude ethnobotanique, phytocimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso. 2009
- Khadir, A., Bendahoum., Benbelaid, F., Abdoune, M-A., Abdelouahid, D-E.; 2013, pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf, récolté en Algérie ; phytothérapie ; 1-6.
- Khaled-Khodja N., Boulekbache-Makhlouf L. and Madanib K. (2014). Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae, *Industrial Crops and Products*, 61, 41-48.
- KHOLKHAL Fatima, Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. 2013/2014 pp 112.
- Kholkhal, F. (2014). Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus* (Doctoral dissertation).
- Kholkhal, F. ,(2013). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante Des Extraits Des Composés hénoliques de *Thymus Ciliatus*Ssp*Coloratus*et Ssp*Euciliatus*.” Doctorat en biologie, université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid
- Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicolo Pathol*. 2002, Vol 30 ;pp 620 – 650.

L

- Lamaison J.L., Carnat A., (1991). Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs et des feuilles de *Crataegus Monogyna* Jacq. et de *Crataegus Laevigata* DC. En fonction de la Végétation. *Plant Med Phytother XXV* : P12-16

Références bibliographiques

- Lehucher-Michel MP, Lesgards JF, Delubac O et al. Stress oxydant et pathologies humaines. Press Med. 2001, Vol. 30 ; pp 1076 – 1081.
- Lugasi, A ; Hovari, J ; Sagi, K.V ; et Biro, L. The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. Acta. Biologica Szegedensis 2003, 1-4: 119-125
- Lutge U., Kluge M., Bauer G. Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 2002, pp 211.

M

- M. V . B. Reddy ,P. Angers, A.Gosselin, J .Arul, Phytochemistry **1998**, 47 ,1515.
- Macheix J-J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes ; 2005.
- Makni M., Haddar A., Kriaa W. and Zeghal N. (2013). Antioxidant, Free Radical Scavenging, and Antimicrobial Activities of *Ajuga iva* Leaf Extracts. International Journal of Food Properties, 16, 756-765.
- Makoi J.H.J.R., Ndakidemi P.A. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. African Journal of Biotechnology, 2007, Vol. 6(12) ; pp 1358-1368
- Marfak A. Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES. 2003, pp187
- Marfak, A., Radiolyse Gamma des Flavonoides. Etude de Leur Reactivite avec les Radicaux issus des Alcools : Formation de Depsides. Docteur de l'universite de limoges Spécialité : Biophysique, Universite de Limoges, Ecole Doctorale Sciences Biologie Santé, Faculté de Pharmacie, 2003, pp220.
- Matkowski, A., Tasarz, P., & Szypuła, E. (2008). Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from Lamiaceae, subfamily Lamioideae. Journal of Medicinal Plants Research, 11, 321-330.
- Mayachiew P., Devahastin S., (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. Food Science and Technology 41: p 1153-1159.
- Miara, M. D., Bendif, H., Ouabed, A., Rebbas, K., Hammou, M. A., Amirat, M., ... and TeixidorToneu, I. (2019). Ethnoveterinary remedies used in the Algerian steppe:

Références bibliographiques

Exploring the relationship with traditional human herbal medicine. *Journal of ethnopharmacology*. 244, 112164.

- Michel, J.; Jourdes, M.; A. Silva, M.; Giordanengo, T.; Mourey, N.; Teissedre, P.-L., Impact of Concentration of Ellagitannins in Oak Wood on Their Levels and Organoleptic Influence in Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011, 59, 5677-5683
- Miller, R. E., McConville, M. J., and Woodrow, I. E. (2006). Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae). *Phytochemistry*. 67(1), 43-51..
- Moumene, F., Benali-Toumi, F., Benabderrahman, M., Benyamina, A., Selem, H., & Dif, M. M. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Allium vineale* et *Allium sativum* de l'Ouest Algérien. *Phytothérapie*, 14(3), 170-175.

N

- Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi M.S. et Ghorbani A. (2005). Labiatae Family infolk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian journal of harmaceuticalresearch. 2, 63-79
- Nickavar, B., Mojab, F., and Dolat-Abadi, R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food chemistry*. 90(4), 609-611.

O

- O'Kennedy R, Thomes R D, éditeurs. *Coumarins : biology, applications and mode of action*. New York, NY : John Wiley & Sons, Inc ; 1997

P

- Paris R, Moyse H. *Précis de matière médicinale*. Paris: Masson. 1969
- Pascual Teresa, J, A.F, Barrero. and A, San Feliciano. ,(1978).Kudtdiol, New Sesquiterpene Alcohol from *Jasania Glutinosa*D.C. *Tetrahedron Letters* 19, no. 43 : 4141–4144.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*. 4(2), 89.

Références bibliographiques

- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry* 30(1), 11-26.
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.

Q

- Quezel , P. Santa, S. ,(1962-1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS.Paris, 1170p
- Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l. Algérie et des régions désertiques méridionales (New Flora of Algeria and the Southern Desert Regions).’ (Editions CNRS : Paris.)

R

- Rajeshwar, Y., & Lalitha, R. (2013). Preliminary phytochemical screening and in vitro anthelmintic effects of *Acmella paniculata* plant extracts. *Biolife*, 1(3), 106-112.
- Rasooli, I, M. B ,Rezaei, and A,Allameh., (2006).Ultrastructural Studies on Antimicrobial Efficacy of Thyme Essential Oils on *Listeria Monocytogenes*. *International Journal of Infectious Diseases* 10: 236–241.
- Rizzo AM., Berselli P., Zava S., et al. Endogenous antioxidants and radical scavengers. *Adv Exp Med Biol* 2011, Vol. 698; pp 52-67.
- Roberts RA., Smith RA., Safe S., et al. Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 2010, Vol. 276; pp 285-94.
- Ruiz, H.B. Ortega, S.R. R. Santillan, N. Farfan, Phenylboronic acid catalyzed-cyadide promoted, one-pot synthesis of 2-(2-hydroxyphenyl) benzoxazole derivatives, *Tetrahedron*, 52 ,(2011), 4308–4312.

S

Références bibliographiques

- Sevanian A ., Nordenbrand K ., Kim E ., Ernester L ., Hochstein P. Microsomal lipid peroxidation : The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450 .Free Radic Biol Med, 1990, Vol. 8; pp 145-152
- Shen, C., Chen, R., Qian, Z., Huang, C., Meng, X., Ma, T., ... & Li, J. (2016). A HPLC–MS/MS method for the quantitation of free, conjugated, and total HDND-7, a novel hesperetin derivative, in rat plasma and tissues: Application to the pharmacokinetic and tissue distribution study. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 118, 149-160.
- Sofiane, G., Wafa, N., Abbas, K.,Amar, O. (2015). Antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids extracted from Thymus ciliatus (Desf.) Benth. Der Pharmacia Lettre.7(7), 358-63
- Soto-Mendivil, E. A, J. F, Moreno-Rodriguez, and M. E Starron-Espinosa.,(2006). Chemical Composition and Fungicidal Activity of the Essential Oil of Thymus Vulgaris against Alternariacitri.” E-Gnosis 4, no. 16

I

- Tadros SH (1979) *Etude pharmacognostique d'Enterolobium cyclocarpum griseb poussant en Egypte* . Thèse de doctorat, Faculté Pharmalogie Université du Caire
- Trabut, L. (1935). Flore du nord de l'Afrique : répertoire des noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le nord de l'Afrique. Imprimeries. La typo-litho" et J. Carbonel réunies.

U

- Ulanowska, K. Majchrzyk ,A.Moskot, M. Jak__bkiewicz-Banecka J. and W_Âgrzyn G.,(2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. Biologia2007; 62: 132-135.

V

Références bibliographiques

- Valsaraj, R. Pushpangadan, P. Smitt, U,W. Adersen, A. Christensen, S, r, B, g., Sittie ,A. Nyman, U. Nielsen, C. and Olsen C, E.,(1997). New Anti-HIV-1, Antimalarial, and Antifungal Compounds from *Terminalia bellerica*. J. Nat. Prod. 60: 739-742.
- Vermerris, W. Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020- 5163-8 (HB). 2006

W

- Wächter, G, A. Hoffmann ,J, J. Furbacher, T. Blake ,M, E. and Timmermann, B, N., (1999). Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. Phytochem. 1999; 52: 1469-1471.
- Waterman PG, Mole S. 1994. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Scientific, Oxford, 248 pp.

Y

- Yeo, D., Dinica, R., Yapi, H. F., Furdui, B., Praisler, M., Djaman, A. J., & N'Guessan, J. D. (2011). Évaluation de l'activité anti-inflammatoire et screening phytochimique des feuilles d'*Annona senegalensis*. *Thérapie*, 66(1), 73-80

Z

- Zgórk, G., Głowniak, K. (2001). Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*.26(1), 79-87.