



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de nature et de vie
Choisissez une filière

Référence / 2023

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :
Djenaihi Wissem et Bensalem Djohaina

Le: [Click here to enter a date.](#)

Composition chimique et activité antioxydante de *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* (Desf)

Jury :

M.	REBAI Redouane	MCA	Université de Biskra	Président
Mme.	BOUATROUS Yamina	Pr.	Université de Biskra	Examineur
M.	DEGHIMA Amirouche	MCA	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Nos remerciements les plus profonds et inexprimables, s'adressent avant tout à **ALLAH** le tout puissant, de nous avoir accordé la force, la santé et le courage afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements à notre promoteur **Mr. DEGHIMA Amirouche** pour avoir acceptée d'encadrer et de diriger ce travail et pour sa disponibilité et ses orientations.

Nous remercions les membres de jury, chacun de son nom, d'avoir accepté de juger notre travail.

Un grand merci est adressé aux techniciens de laboratoire :
Walid, Oussama, Abdellah, Aalimaa, Fouzia et Fatima, pour leur aide et leur soutien.

Nous remercions DERARDJA Imene et BAMBRA Moussa abderrazak pour leurs conseils et leurs orientations.

Enfin, nous remercions tous ceux, de près ou de loin, qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci de fond de cœur.

Dédicace

Si Dieu a mis le paradis sous les pieds des mères, ce n'est pas pour rien.

Je dédie ce modeste travail à ma mère, à ma mère et encore à ma mère

A l'âme de mon cher grand-père DAKHIA HOCINE

A ma chère grand-mère ABASSI MAZIA

A toutes mes familles BENSALÉM et DAKHIA

A mon binôme Wissem

A toutes mes chères collègues

A toutes mes chères amies.

DJOHAINA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A Mes Très chers Parents, source de vie, d'amour et d'affection qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années, qui m'ont encouragé à aller de l'avant et qui m'ont donné tout leur amour et toute l'aide pour prendre mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

Trouvez ici, chère mère et cher père, le fruit de tant de dévouements et de sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour. Puisse Dieu leur accorder santé, bonheur, prospérité et longue vie afin que je puisse un jour combler de joie leurs vieux jours.

A Ma Sœur Selsabil et Mes Frères Nafaa, Okba et Mahmoud, pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse. Merci d'avoir toujours soutenu et merci pour tous les bons moments passé ensemble, et ce n'est pas fini.

A Mes Tantes, Mon oncle et sa famille qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A mon binôme DJOHAÏNA.

A toutes mes chères amies, tout particulièrement SIRÏNE.

WISSEM

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	IV
Introduction générale	1
Chapitre 1 : Présentation de la plante <i>Thymus munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i>	
1. Description botanique	3
2. Systématique	3
3. Composition chimique	3
3.1 Composition chimique de l'huile essentielle de <i>T. munbyanus</i>	4
4. Usage traditionnel et activités biologiques	5
Chapitre 2 : Radicaux libres et pouvoir antioxydant	
1. Définition des radicaux libres	6
2. Types des radicaux libres	6
3. Antioxydants enzymatique et non enzymatique	7
4. Antioxydants naturels (vit E, vit C et flavonoïdes).....	8
□ La vitamine E	8
□ La vitamine C (Acide ascorbique)	9
□ Les polyphénols	9
5. Stress oxydant	9
6. Pathologies liées au stress oxydant	10
Chapitre 03 : Métabolites secondaires	
1. Les métabolites secondaires	11
2. Composés phénoliques	11
2.1 Acides phénoliques	12
2.2 Les flavonoïdes.....	12
2.3 Les tanins	12
3. Terpènes	13
Chapitre 4 : Matériels et méthodes	
1. Matériel végétal	14
2. Méthodes	15
2.1 Extraction	15

2.1.1 Extrait éthanolique.....	15
2.1.2 Extraction des huiles essentielles	17
2.1.3 Extrait aqueux.....	17
2.1.4 Détermination du rendement	17
2.2 Analyse quantitative	18
2.2.1 Dosage des polyphénols totaux	18
2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux.....	18
2.2.3 Dosage des flavonols	19
2.2.4 Dosage des triterpènes	19
2.3 Activité antioxydante des extraits	20
2.3.1 Piégeage du radical libre DPPH•.....	20
2.3.2 Piégeage du radical ABTS+	21
2.3.3 Capacité antioxydante totale (TAC)	21
2.3.4 Pouvoir réducteur (FRAP)	22
Chapitre 5 : Résultats et discussion	
1. Rendement d'extraction	23
1.1 Rendement de l'extrait éthanolique.....	23
1.2 Rendement des huiles essentielles.....	24
1.3 Rendement de l'extrait aqueux.....	24
2. Dosage des polyphénols totaux.....	25
3. Dosage des flavonoïdes totaux	27
4. Dosage des flavonols.....	29
5. Dosage des triterpènes.....	31
6. Evaluation des activités antioxydantes.....	33
6.1 Piégeage du radical libre DPPH•.....	33
6.2 Piégeage du radical cation ABTS+.....	35
6.3 Capacité antioxydante totale TAC.....	39
6.4 Pouvoir réducteur FRAP	41
Conclusion	44
Bibliographie	45
Résumé.....	46

Liste des tableaux

Tableau 1. Position systématique de <i>Thymus munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i>	3
Tableau 2. Compositions en pourcentage de l'huile essentielle de <i>Thymus munbyanus</i>	5
Tableau 3. Exemples d'espèces réactives oxygénées et azotées.....	7
Tableau 4. Systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.....	8

Liste des figures

Figure 1. Stress oxydant : Déséquilibre entre radicaux libres et antioxydants	10
Figure 2. Structure de base des composés phénoliques	11
Figure 3. <i>Thymus munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i> (Desf), à gauche les parties aériennes récoltées et à droite la plante broyée	14
Figure 4. Localisation de la région de récolte (Ras el oued) dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj	14
Figure 5. Différentes étapes de l'extraction éthanolique	16
Figure 6. Extraction des huiles essentiels par appareil de type Clevenger	17
Figure 7. Equation de réduction de radical DPPH •	20
Figure 8. Histogramme du rendement de l'extraction des parties aériennes de <i>T. munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i>	23
Figure 9. Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	25
Figure 10. Teneur des extraits en polyphénol totaux en µg EAG / mg d'extrait	26
Figure 11. Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.....	27
Figure 12. Teneur des extraits en flavonoïdes totaux en µg EQ / mg d'extrait	27
Figure 13. Droite d'étalonnage de la rutine pour le dosage de flavonol.	29
Figure 14. Teneur des extraits en flavonol des extraits exprimée en µg ER / mg d'extrait.....	30
Figure 15. Droite d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des triterpénoïdes.	31
Figure 16. Teneur des extraits en triterpénoïde en µg EAU / mg d'extrait.....	32
Figure 17. Droite d'étalonnage du trolox pour le teste de piégeage du radical libre DPPH •	33
Figure 18. Aactivité anti-radicalaire contre le DPPH • des parties aériennes de <i>T. munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i> et les standards.....	34
Figure 19. Activité anti radicalaire des extraits 50%,70%,100%, l'extrait aqueux et l'huile essentielle des parties aériennes de <i>T. munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i> vis-à-vis le radical ABTS+.....	35
Figure 20. Activité anti radicalaire des standards quercetine, trolox et vitamine C vis-à-vis le radical ABTS+.....	36
Figure 21. Droite d'étalonnage du trolox pour le teste de piégeage du radical ABTS+.....	37
Figure 22. Résultats de comparaison de radical ABTS+ des parties aérienne de <i>T. munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i> et des standards.....	37

Figure 23. Droite d'étalonnage d'acide ascorbique de teste de capacité antioxydante totale.39

Figure 24. L'activité antioxydante total des extraits 50%,70% et 100%, l'extrait aqueux et l'huile essentielle des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* et les standards quercetine et trolox.40

Figure 25. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique du teste de pouvoir réducteur....41

Figure 26. Résultats du pouvoir réducteur des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* et les standards.42

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

ADN : Acide désoxyribonucléique

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

EAA : Equivalent acide ascorbique

EAG : Equivalent en acide gallique

EAU : Equivalent en acide ursolique

EQ : Equivalent en quercétine

ER : Equivalent en rutine

ERO : Espèce réactif d'oxygène

ET : Equivalent trolox

FRAP : Pouvoir réducteur du fer

TCA : Acide trichloracétique

TEAC : Capacité antioxydante en équivalent trolox

Introduction générale

Introduction générale

De nos jours, une grande variété de plantes aromatiques et médicinales possède des caractéristiques biologiques vitales qui trouvent de nombreuses utilisations dans les domaines de la médecine, de la pharmacie et de la cosmétique. Ce nouvel intérêt est le résultat du fait que les plantes médicinales sont une source inépuisable de composés bioactifs, tandis que d'autre part, les consommateurs de produits pharmaceutiques sont préoccupés par les effets secondaires et recherchent des thérapies moins dures pour leur corps.

La médecine traditionnelle est l'aboutissement de générations d'expériences thérapeutiques des praticiens du système indigène de la médecine. La préparation traditionnelle comprend les matières organiques, les minéraux et les plantes médicinales, entre autres. Seuls les médicaments conventionnels qui utilisent principalement des produits végétaux médicamenteux à des fins thérapeutiques sont considérés comme des médicaments à base de plantes (Agrawal, 2009).

L'être humain continue de rechercher dans son environnement les plantes pour soulager ses maux (Tangara *et al.*, 2022). En raison des risques toxicologiques potentiels, l'utilisation de molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause (Bougandoura et Bendimerad, 2013). Plusieurs pathologies, telles que l'arthrose, l'asthme, le cancer, le diabète, les maladies cardiaques et l'athérosclérose, seraient causées par les radicaux libres. L'utilisation de produits naturels à base des plantes riches en antioxydants pourrait jouer un rôle important dans la prévention de ces maladies (Dieng *et al.*, 2017).

Thymus est un grand genre de la famille des Lamiacées comprenant multiples espèces médicinales et aromatiques, y compris *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* qui est considéré comme une espèce endémique en Afrique du Nord, caractérisée par des activités biologiques intéressantes, à savoir des effets antimicrobiens, antioxydants, digestifs, anti-inflammatoires, expectorants et anticancéreux (Bendif *et al.*, 2018).

L'objectif essentiel de notre travail est l'estimation de contenu des parties aériennes de la plante *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux, en flavonols et en triterpènes. Aussi l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle de cette plante.

Le présent travail est scindé en deux parties. La première est une étude bibliographique concernant des informations sur la plante *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus*, des notions sur les métabolites secondaires et le stress oxydant. La deuxième partie, contient le matériel et la méthodologie de travail et les résultats obtenus suivie des discussions, et enfin la conclusion.

Première partie
Partie bibliographique

**Chapitre 1 : Présentation
de la plante *Thymus
munbyanus* subsp. *Ciliatus***

1. Description botanique

Le genre *Thymus* est composé de sous-arbustes aromatiques aux fines branches qui poussent souvent à partir de tiges courtes. On le trouve dans toute l'Eurasie, l'Afrique du Nord et le sud du Groenland (Song et al., 2023). La partie aérienne de cette plante est un petit sous-arbrisseau qui atteint 30 cm de haut, à des tiges prostrées et ramifiées et des feuilles sensibles, petites et simples. La partie inférieure de la tige est généralement tétragonale et ligneuse ramifiée (Bendif et al., 2020). Les feuilles florales sont vertes (Miara et al., 2013), et les fleurs sont rose mauve pâle et apparaissent au début de l'été (Nezhadali et al., 2014).

2. Systématique

Le genre *Thymus* comprend environ 400 espèces de plantes aromatiques vivaces et de sous-arbustes (Chaouche et al., 2021). La classification de la plante *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1. Position systématique de *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* (Quezel et santa, 1963).

Embranchement	Phanerogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledones
Ordre	Tubi florales
Famille	Lamiacée ou Labiées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus munbyanus</i>
Sous espèce	<i>Thymus munbyanus</i> subsp. <i>Ciliatus</i> .

3. Composition chimique

Thymus munbyanus subsp. *Ciliatus* est une source naturelle importante de composés phénoliques bioactifs qui peuvent être exploiter pour le développement des médicaments

naturels de substitution pour le traitement et la prévention de diverses maladies (Elbouny *et al.*, 2022).

Chaouche *et al.*, (2021), ont identifié à partir d'extraits de n-butanol et d'acétate d'éthyle de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* deux substances jusqu'alors inconnues, (2,3,5,6 tétrahydroxybenzoate de méthyle et l'acide 4-hydroxy-5-méthoxy-2-oxo-2H-pyran-3-carboxylique), et 14 composés connus, dont des flavonoïdes (lutéoline et isorhamnetin-3-O- β -glucoside), et des composés phénoliques, (acide salicylique, acide pluchoïque, acide protocatéchuïque, acide férulique, acide p-coumarique, acide rosmarinique, et du tyrosol).

l'équipe de (Bendif *et al.*, 2020), ont montrés que l'analyse de la composition chimique des parties aériennes de *Thymus munbyanus* a permet d'identifier une large gamme de composés bioactifs , principalement des flavonoïdes, des tri-terpénoïdes, des dérivés phénylpropanoïdes et glycosidique. Ainsi que l'extrait méthanolique de *T. munbyanus* comprenne essentiellement des acides phénolique, à savoir, l'acide rosmarinique, férulique, quinique, et l'acide caféique. Egalement, plusieurs dérivés de flavonoïdes ont été identifiés, notamment, l'ériodictyol-7-O-hexoside, la gallo-catéchine, des dérivés de la quercétine, de l'isorhamnétine, et de la lutéoline.

3.1 Composition chimique de l'huile essentielle de *T. munbyanus*

L'huile essentielle isolée par hydrodistillation des parties aériennes (feuilles et inflorescences) de *T. munbyanus* était un liquide jaune. Les analyses par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse ont permis d'identifier 64 composants représentant 98,9 % de la composition de l'huile. L'huile contenait de grandes quantités de monoterpènes contenant de l'oxygène (63,1 %), le composant suivant le plus fréquent étant les hydrocarbures monoterpéniques (29,0 %). Les composants prédominants détectés étaient le thymol, le γ -terpinène, le p-cymène et le carvacrol (Chikhouné *et al.*, 2015). Les compositions en pourcentage sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2. Compositions en pourcentage de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus* (kabouche *et al.*, 2009).

Composé	% Composition
α -thuyène	0.4 %
α -Pinène	1.6 %
p-Cymène	5.6 %
Thymol	79.1 %
Carvacrol	4.4 %
Linalol	3.5 %
γ -Terpinène	4.1 %

4. Usage traditionnel et activités biologiques

Depuis l'Antiquité, les composés naturels à base de plantes et d'épices, notamment certaines plantes du genre *Thymus*, ont été traditionnellement utilisés comme ingrédients aromatiques des préparations culinaires (Salehi *et al.*, 2019).

En Algérie, les *Thymus* sont traditionnellement utilisés pour le traitement des maladies respiratoires et gastro-intestinales et comme remède aux dysfonctionnements endocriniens (Bendif *et al.*, 2020).

Au Maroc, ils utilisent cette plante pour le traitement de plusieurs troubles médicaux comme la diarrhée, la fièvre, la toux, les zones infectées et les plaies. Généralement, cette espèce a été utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires après administration orale ou topique (Moukhles *et al.*, 2018).

**Chapitre 2 : Radicaux
libres et pouvoir
antioxydant**

1. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des intermédiaires très réactifs avec un ou plusieurs électrons non appariés ayant la capacité d'extraire des électrons des molécules qui les entourent, ce qui provoque une dégradation oxydative des substrats des systèmes biologiques comme les lipides membranaires, les protéines cellulaires, les glucides, l'ADN et les enzymes. La principale source d'espèces réactives de l'oxygène sont les mitochondries, ou ils constituent des sous-produits de la chaîne de transport d'électrons de la respiration aérobie (Elsayed Azab *et al.*, 2019).

2. Types des radicaux libres

Il est indispensable de distinguer un groupe spécifique de composés radicalaires, que nous appellerons radicaux primaires, qui ont une fonction physiologique spécifique. Ces radicaux libres primaires réagissent avec les composants métaboliques de la cellule pour produire d'autres radicaux libres, appelés radicaux secondaires. L'anion super oxyde $O_2^{\bullet-}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ainsi que des radicaux dérivés de l'azote comme le monoxyde d'azote NO^{\bullet} , sont des exemples des principaux radicaux produits lorsque l'oxygène est réduit à un électron.

Bien qu'il ne s'agît pas de radicaux libres, d'autres espèces formées à partir d'oxygène appelées espèces d'oxygène actif, telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou l'acide peroxynitrique (ONOOH), sont réactives et peuvent agir comme précurseurs des radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

Tableau 3. Exemples d'espèces réactives oxygénées et azotées.

Espèces réactives oxygénées			
Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Anion super oxyde	$O_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}	Acide hypochloreux	$HOCl$
Espèces réactives azotées			
Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}	Acide peroxyntrique	$ONOOH$

3. Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques

Les antioxydants sont des substances qui empêchent d'autres molécules de s'oxyder sous l'effet des radicaux libres. Ce sont des molécules biologiques et toute substance qui, lorsqu'elle est présente à faibles concentrations par rapport à celles d'un substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation de ce substrat. Donc, un antioxydant est défini comme une molécule qui a la capacité de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules (Trabsa *et al.*, 2020).

La génération d'antioxydants enzymatiques et non enzymatiques est l'un des processus les plus cruciaux du système de défense antioxydant interne.

Des antioxydants tels que la superoxyde dismutase (SOD) et la peroxydase (POD) entrent en jeu pour piéger les ERO ; par exemple, la SOD facilite la conversion des radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) tandis que le POD décompose le H_2O_2 en eau (H_2O) et O_2 moléculaire (Hassan *et al.*, 2022). La catalase est une enzyme commune antioxydante présente presque dans tous les tissus vivants qui utilisent l'oxygène. L'enzyme catalyse la dégradation ou la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à l'eau et à l'oxygène moléculaire, complétant ainsi le processus de détoxification initiée par la SOD (Ighodaro et Akinloye, 2018).

Tableau 4. Systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Garrel et Bigard, 2017).

Systèmes antioxydants enzymatiques	Systèmes antioxydants non enzymatiques	
	Endogène	Nutritionnels
Superoxydes dismutases (SOD)		
Catalases	Coenzyme Q10	Vitamine E
Glutathion peroxydases (GPx)	Glutathion (GSH)	Vitamine C
		Bêta-carotène

4. Antioxydants naturels (vit E, vit C et flavonoïdes)

Les antioxydants naturels, en particulier ceux que l'on trouve dans les fruits, les légumes et d'autres aliments à base de plantes, sont cruciaux pour la prévention des maladies (Rahaman *et al.*, 2023). Les antioxydants les plus connus sont les flavonoïdes, le tocophérol (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C). La majorité des composés antioxydants synthétiques ou naturels ont des groupes hydroxy phénoliques dans leurs structures, et leurs propriétés antioxydantes sont en partie attribuées à leur capacité à lier les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles et superoxyde.

- **La vitamine E**

La vitamine E, qui est une famille de huit composés, est bien connue pour ses propriétés antioxydantes (Landrier, 2011). La forme la plus courante de vitamine E dans les tissus végétaux est le α -tocophérol, qui est également le plus courant dans les graines et les produits dérivés des graines (Mendonça *et al.*, 2022). Ce sont des molécules chimiques liposolubles principalement présentes dans les membranes cellulaires. Ils peuvent prévenir la peroxydation lipidique provoquée par les ERO au niveau des membranes plasmiques par neutralisation des radicaux libres hydroxyles et des anions superoxydes (Kowalczyk, 2022). La vitamine E protège aussi l'ADN et les protéines de l'oxydation (Rychter *et al.*, 2022).

- **La vitamine C (Acide ascorbique)**

En tant qu'antioxydant non enzymatique, la vitamine C agit en empêchant les réactions en chaîne impliquant les radicaux libres. L'acide ascorbique joue un rôle dans le maintien de l'intégrité des tissus vasculaires ainsi que dans la biosynthèse du collagène et du fer, la neuroprotection, l'hématopoïèse et la fonction des leucocytes (Mendonça *et al.*, 2022).

- **Les polyphénols**

Les polyphénols et les flavonoïdes sont des composés végétaux naturels présents dans de nombreux aliments tels que les fruits, les légumes, les grains entiers, le thé et le vin rouge. Ils ont été largement étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la santé et leur rôle en tant qu'antioxydants naturels. Les polyphénols et les flavonoïdes ont été associés à une réduction du risque de développer ces maladies en raison de leur capacité à piéger les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs. En outre, certaines études ont montré que les flavonoïdes peuvent également aider à protéger contre les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. Des allégations nutritionnelles ont également été établies concernant les bienfaits des polyphénols. Par exemple, les flavanols de cacao ont été associés à la préservation de l'élasticité des vaisseaux sanguins, ce qui contribue à une circulation sanguine normale. Les polyphénols et les flavonoïdes peuvent être obtenus par la consommation d'aliments riches en ces composés, tels que les baies, les agrumes, les légumes verts et les noix, ou par la prise des compléments alimentaires (Mendonça *et al.*, 2022; Amelia *et al.*, 2018; Papuc *et al.*, 2017).

5. Stress oxydant

C'est un déséquilibre entre la génération d'espèces radicalaires et la capacité antioxydante cellulaire et qui cause une oxydation intracellulaire excessive (Migdal et Serres, 2011), qui inclue des événements dangereux comme la peroxydation lipidique et les dommages oxydatifs de l'ADN (Yoshikawa et Naito, 2002). De nombreux types de dommages, notamment la cytotoxicité, la génotoxicité, la peroxydation des lipides, l'apoptose, la dégradation des protéines intracellulaires et la dérégulation des ARNm, peuvent en résulter au niveau cellulaire.

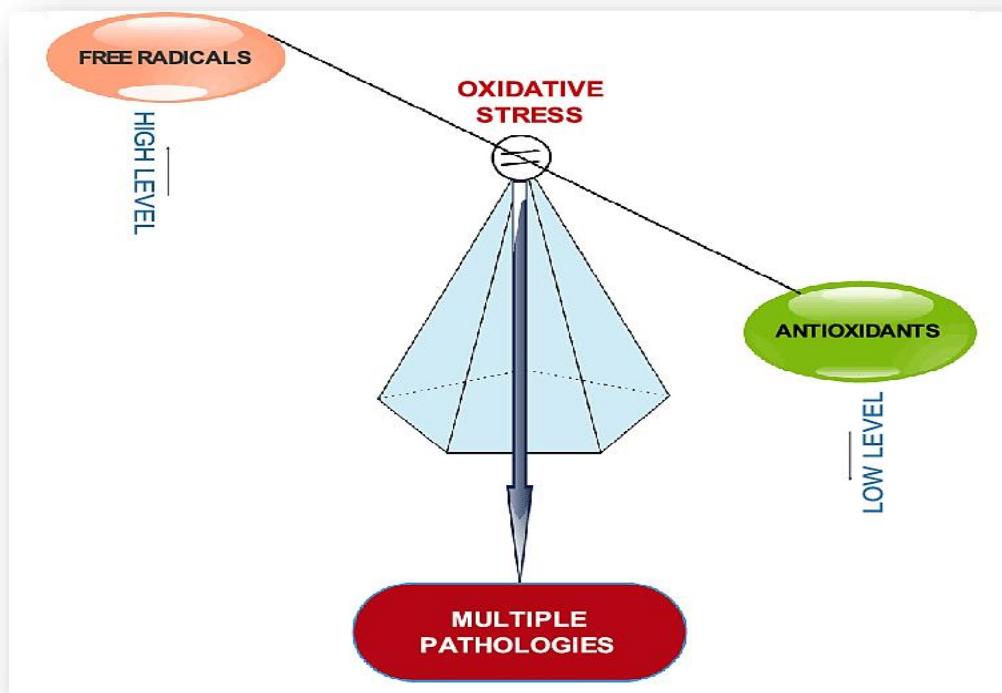


Figure 1. Stress oxydant : Déséquilibre entre radicaux libres et antioxydants (Ighodaro et Akinloye, 2018).

6. Pathologies liées au stress oxydant

Les radicaux libres sont produits soit par le métabolisme cellulaire normal, soit à la suite de la pollution et d'autres facteurs environnementaux. Ces molécules attaquent l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides causant des lésions tissulaires, une inflammation, une apoptose, une autophagie et une nécrose. Leur surproduction induit le stress oxydant qui est responsable du vieillissement prématuré et contribue aux maladies cardiovasculaires, le cancer, la maladie d'Alzheimer et les cataractes (Rahaman *et al.*, 2023).

Chapitre 03 : Métabolites secondaires

1. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont essentiellement des poids moléculaires inférieurs à 3000 Da, et sont produits lors de la croissance des plantes à partir des métabolites primaires pour se défendre des herbivores phytophages (Divekar *et al.*, 2022). De nombreux types de plantes ont des métabolites différents, chacun avec une composition chimique unique. Les métabolites secondaires présentent une variété structurelle, leur potentiel en tant que médicaments candidats et/ou leur puissance en tant qu'antioxydants est très convoitée (Twaij et Hasan, 2022). Les structures chimiques des métabolites végétaux secondaires sont divisées en différentes classes (A. Hussein et A. El-Anssary, 2019). Les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes sont trois grandes familles moléculaires des métabolites secondaires (Bourgau *et al.*, 2001). Les métabolites secondaires des plantes sont utilisés depuis des lustres en médecine traditionnelle en raison de leur activité biologique étendue.

2. Composés phénoliques

Le plus grand groupe de métabolites secondaires trouvés dans les plantes sont probablement les phénols. Leur complexité varie de composés simples à un cycle aromatique à des substances polymères très complexes, mais ils ont tous un point commun : la présence d'un ou plusieurs groupes phénol (fig. 2). Ils sont abondants dans les plantes et ont un impact considérable sur la couleur, la saveur et l'arôme de nombreuses herbes, aliments et boissons. Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de leur structure ou de leur biosynthèse. Les composés phénoliques peuvent être divisés en groupes en fonction de leurs structures : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (A. Hussein et A. El-Anssary, 2019).

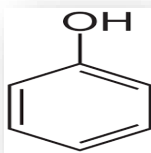


Figure 2. Structure de base des composés phénoliques

2.1 Acides phénoliques

Ils sont communs dans tout le règne végétal. Ce sont des dérivés hydroxylés soit de l'acide benzoïque (C6-C1) formant ainsi la classe des acides hydroxy benzoïques comme l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique (Chira *et al.*, 2008). Ils dérivent aussi de l'acide cinnamique (C6-C3) formant ainsi la classe des acides hydroxy cinnamiques (Elie, 2022), comme l'acide para-coumarique (p-coumarique) (Chira *et al.*, 2008).

2.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont le plus grand groupe de phénols naturels. Le squelette structurel des flavonoïdes comprend un cycle chromane portant un cycle aromatique en position 2, 3 ou 4. Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes selon le niveau d'oxydation du cycle central (cycle C). Les plus courants sont les anthocyanes, les flavones et les flavonols (A. Hussein et A. El-Anssary, 2019). Par exemple, les anthocyanidines, les flavones, les flavonols et les isoflavones présentent une insaturation C2=C3 (comme : les sérénines, les cyanidines...), tandis que les flavanones, les dihydroflavonols et les flavan-3-ols sont des exemples de flavonoïdes saturés (comme : l'amorisine, l'astilibine) (Dias *et al.*, 2021).

2.3 Les tanins

Les tanins proviennent d'une variété de parties de plantes, y compris le bois, l'écorce, les feuilles, les fruits et les galles ou les gousses. Les tanins végétaux sont des produits chimiques polyphénoliques qui sont fréquemment employés dans le secteur du cuir. Les sels de chrome sont les tanins les plus utilisés, bien que des tanins végétaux et synthétiques soient également utilisés (Nazer *et al.*, 2006). Ces composés peuvent être divisés chimiquement en tanins condensés et hydrolysables (Sargsyan *et al.*, 2020).

Les tanins condensés sont des polymères de flavan-3-ol (catéchine, par exemple) ou de flavan-3,4-diol (proanthocyanidines), reliés par des liaisons C-C ou C-O-C pour produire des substances de différents poids moléculaires (McMahon *et al.*, 2000).

Comme leur nom l'indique, les tanins hydrolysables peuvent être hydrolysés par chauffage avec un acide doux et sont constitués de polyphénols (acide gallique et/ou acide hexahydroxydiphénique) liés par un ester à un fragment hexose (McMahon *et al.*, 2000).

3. Terpènes

La classe la plus nombreuse et la plus variée de produits chimiques secondaires trouvés dans les plantes sont les terpènes. Chimiquement parlant, ils sont tous formés d'unités d'isoprène à 5 carbones de constructions diverses. Un préfixe dans le nom spécifie le nombre d'unités terpéniques comme suit. Les terpènes sont classés en fonction du nombre d'unités d'isoprène dans la molécule (A. Hussein et A. El-Anssary, 2019).

Par exemple les triterpènes ont la formule chimique $C_{30}H_{48}$ et sont constitués de six unités isoprène. Environ 4000 triterpénoïdes ont été identifiés, constituant une grande partie des composés gras présents dans toutes les plantes. Les triterpènes peuvent être trouvés seuls ou bien couplés à d'autres substances par exemples : Limonene, Lialool, Linalyl Acétate, Citronellal, Carvone, Farnesol, Bisabolol, Caryophyllene, Quassin (A. Hussein et A. El-Anssary, 2019).

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre 4 : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

- *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* (Desf)

La plante *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* (Desf) a été récoltée en avril 2022 dans la région de Ras el-Oued, wilaya de Bordj Bou Arreridj. La partie aérienne de la plante (feuilles, fleurs et tiges) a été nettoyée, puis séchée à température ambiante à l'abri de la lumière dans un endroit sec, puis stockée jusqu'à utilisation. Juste avant l'extraction, le matériel végétal est broyé dans un moulin électrique pour donner une poudre fine.



Figure 3. *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* (Desf), à gauche les parties aériennes récoltées et à droite la plante broyée

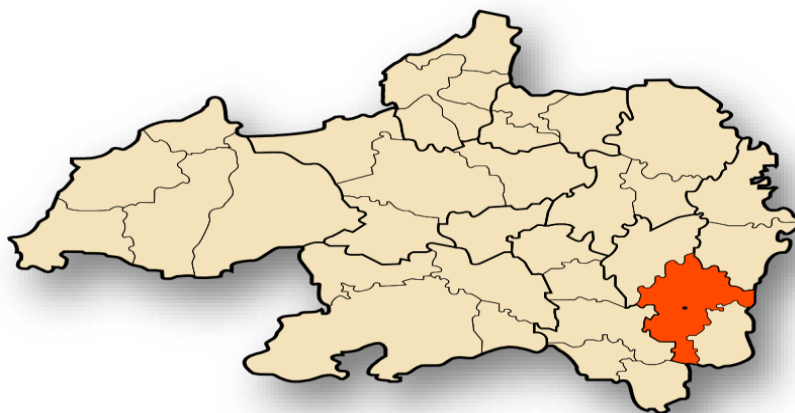


Figure 4. Localisation de la région de récolte (Ras el oued) dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj

2. Méthodes

2.1 Extraction

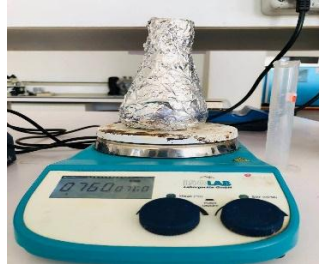
2.1.1 Extrait éthanolique

La préparation des extraits éthanoliques est réalisée selon Martínez-Cruz et Paredes-López, (2014), avec une légère modification. Dans le présent travail, nous avons ciblé les métabolites secondaires (essentiellement des composés phénoliques) en utilisant des mélanges hydro-éthanoliques comme solvant (50%,70% et 100%). Le premier extrait hydro-alcoolique est préparé par macération de 10g de la poudre végétal de *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* dans 100ml de mélange éthanol-eau distillé (50:50V/V), sous agitation pendant 24 heures à l'obscurité et à température ambiante. Le deuxième extrait hydro-éthanolique est préparé avec un mélange éthanol-eau distillé (70:30V/V) et le troisième extrait éthanolique est préparé avec de l'éthanol pure (100%), toujours dans les mêmes conditions.

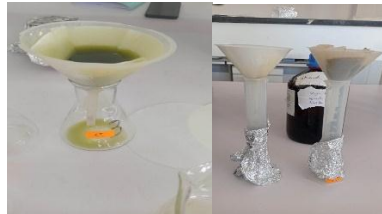
Les extraits sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman, puis une évaporation du solvant à l'aide d'une étuve à 40°C est effectuée. Les extraits secs obtenus ont été ensuite conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leurs utilisations.



10g de la plante broyée



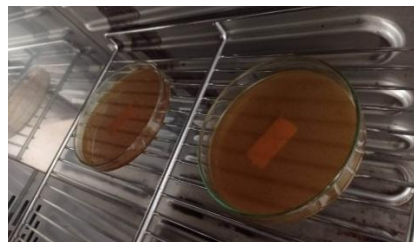
Macération dans l'éthanol sous agitation pendant 24h



Filtration



Séchage



Gratter et conserver dans des flacons sombres au réfrigérateur jusqu'à l'utilisation

Figure 5. Différentes étapes de l'extraction éthanolique

2.1.2 Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydro distillation dans un appareil de type Clevenger. Trois distillations ont été réalisées par ébullition pendant trois heures de 100g de matériel végétal avec 1 litre d'eau distillée dans un ballon de 2 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. L'huile essentielle obtenue a été stockée à 4°C à l'obscurité.



Figure 6. Extraction des huiles essentiels par appareil de type Clevenger

2.1.3 Extrait aqueux

La solution issue de l'extraction des huiles essentiels est filtrée sur papier filtre Wattman (3 mm) pour la séparer de la plante résiduelle, puis séchée dans une étuve à 40° C pour former un extrait aqueux dans le but de valoriser cette solution résiduelle.

2.1.4 Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Le pourcentage des extrait bruts aqueux et éthanolique a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = (M2-M1)/M0*100$$

Où :

R : Rendement exprimé en %

M0 : Masse en gramme du matériel végétal à traite.

M1 : Masse en gramme de boite pètrie vide.

M2 : Masse en gramme de boite pètrie plein par l'extrait.

- **Rendements des huiles essentielles**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le volume de l'huile extraite et le poids de la plante utilisé pour l'extraction. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = (V_B / P_A) \times 100$$

Où :

V_B : Le volume d'H.E obtenue.

P_A : La masse de la matière végétale sèche.

2.2 Analyse quantitative

2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est déterminé par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolibdique (H₃PMo₁₂O₄₀) (Ribéreau-Gayon, 1968). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

Le contenu phénolique total des extraits a été estimé avec la méthode décrite par Deghima *et al.*, (2020). Un mélange de 100 µl d'échantillon et 500 µl de réactif de Folin Ciocalteu à 10 % a été incubé pendant 4 min dans un flacon sombre, puis 400 µl de carbonate de sodium (7,5 %) ont été ajoutés. Tous les réactifs ont finalement été incubés pendant 2 heures et l'absorbance a été mesurée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait de la plante par le méthanol. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent en acide gallique par 1 mg d'extrait (µg de EAG/mg extrait) en utilisant une gamme d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions (10-150 µg/ml acide gallique).

2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de trichlorure d'aluminium un complexe jaunâtre par

chélation de l'ion Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribereau-Gayon, 1968).

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée par spectrophotométrie selon Djeridane *et al.*, (2006). Un mélange de 600 μ L d'extrait et 600 μ L de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2% ont été incubés à température ambiante pendant 15 min, et l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 430 nm, contre un blanc qui contient 600 μ L d'extrait et 600 μ L de méthanol. La concentration en flavonoïdes contenus dans les extraits est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine comme standard (5-50 μ g/ml) et les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de quercétine par un milligramme d'extrait (μ g EQ / mg d'extrait).

2.2.3 Dosage des flavonols :

Les flavonols réagissent avec le trichlorure d'aluminium et l'acétate de sodium et donne une coloration jaune mesurable à 440 nm.

La quantification des flavonols dans les différents extraits de *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* a été effectuée avec la méthode de Kumaran et Karunakaran, (2007). Un mélange de 300 μ l d'extrait avec 300 μ l de trichlorure d'aluminium (2 %) et 450 μ l acétate de sodium (5%) ont été incubé à l'obscurité pendant 2,5 h à 25°C. L'absorbance est mesurée contre un blanc dans lequel 300 μ l d'extrait, 300 μ l méthanol et 300 μ l de l'eau distillé sont mélangés. Une courbe d'étalonnage a également été construite en utilisant la rutine (5 à 150 μ g/ml) comme standard. Les résultats sont obtenus en μ g ER/ mg d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de la rutine.

2.2.4 Dosage des triterpènes

Le principe de base de cette méthode est la réaction des triterpènes oxydés avec la Vanilline, où l'acide sulfurique est utilisé comme oxydant. Les sapogénines stéroïdiennes avec ou sans double liaison en C-5, les sapogénines triterpénoïdes et les acides stéroliques et biliaires qui ont un groupe OH en position C-3 réagissent avec la vanilline en milieu acide pour donner des chromogènes avec des maximal d'absorbance à 548 nm, selon la nature des saponines.

La détermination de la teneur en triterpénoïde a été effectuée par la méthode de Chang *et al.*, (2012). Un mélange de 40 μ L d'extrait avec 200 μ L d'acide perchlorique et 60 μ L de Vanilline (5%) a été incubé pendant 45 minutes à 60°C à l'obscurité. Après refroidissement, 900 μ l d'acide acétique est ajoutée. L'absorbance est mesurée à 548 nm contre un blanc dans

lequel 40 μL méthanol, 200 μL d'acide perchlorique et 60 μL de vanilline (5%) sont mélangés. Les résultats sont obtenus en μg EAU/ mg d'extrait sec par extrapolation sur la courbe d'étalonnage de l'acide ursolique (10-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (Absorbances en fonction de la concentration).

2.3 Activité antioxydante des extraits

2.3.1 Piégeage du radical libre DPPH•

Le principe de ce test est basé sur le fait que le radical libre DPPH présente une bande d'absorption caractéristique à 517 nm liée à la résonance des électrons non appariés. En présence d'une substance chimique anti-radicalaire, il y a capture des électrons non appariés et les produits de la réaction n'absorbent plus que vers 470 nm. Cela se traduit par une baisse de l'absorption à 517 nm liée à la décoloration de la solution de DPPH (Dieng *et al.*, 2015).

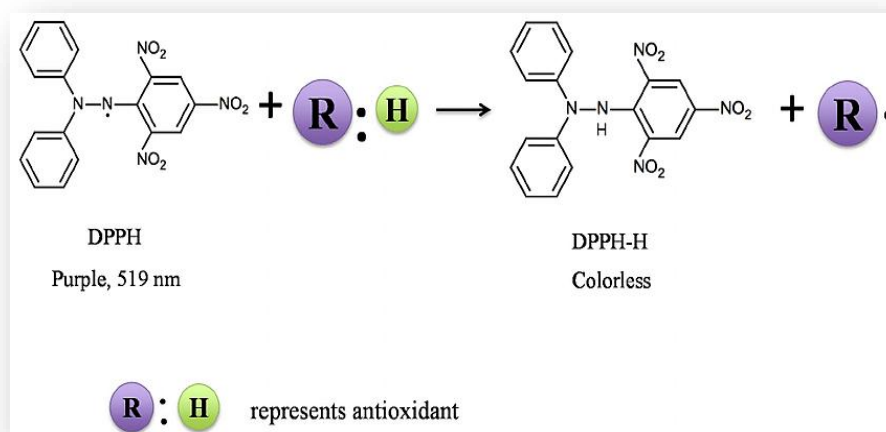


Figure 7. Equation de réduction de radical DPPH•

La capacité à inhiber le radical libre synthétique DPPH• a été estimée en utilisant la méthode de Garcia-Herreros *et al.*, (2010). Une solution mère méthanolique de DPPH• (0,04 mg/mL) a été préparée et son absorbance a été ajustée à $0,80 \pm 0,02$ à 517 nm. Un volume de cette solution a été mélangé avec le même volume de différentes concentrations de l'extrait et incubé pendant 30 min. Contre un blanc qui contient un volume de l'extrait mélangé avec le même volume de méthanol. L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Deghima *et al.*, 2021).

L'activité antioxydante liée à l'effet de piégeage du radical DPPH• est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante :

$$PI = (A_0 - A_1) / A_0 * 100 \quad \text{Où :}$$

A₀ : Absorbance du contrôle

A₁ : Absorbance d'échantillon

La capacité à inhiber le radical libre synthétique DPPH• est exprimée en microgramme équivalents de trolox par milligramme d'extrait (µg ET / mg d'extrait).

2.3.2 Piégeage du radical ABTS+

Le radical ABTS+ absorbe à 734 nm, et l'arrachement d'un électron e- à un atome d'azote de l'ABTS+, par une substance antioxydante entraîne la décoloration de la solution d'ABTS+ (Diop *et al.*, 2023).

Cette activité est déterminée par la méthode de Re *et al.*, (1999). Un volume de 50 µl d'extrait ou standard a été mélangé avec 950 µl d'ABTS+, après agitation les tubes sont incubés 7 min à l'obscurité, et la mesure de l'absorbance est effectuée à 734 nm. Pour le Contrôle du test il comprend 50 µl de méthanol et 950 µl d'ABTS+.

L'activité de l'ABTS+ est exprimée en pourcentage d'inhibition et est calculée par l'équation suivante :

$$ABTS+(\%) = A_c - A_t / A_c * 100 \quad \text{Où :}$$

A_c : Absorbance du contrôle.

A_t : Absorbance du test.

L'activité de piégeage du radical cation ABTS+ est exprimée en microgramme équivalents de tolox par milligramme d'extrait (µg ET / mg d'extrait).

2.3.3 Capacité antioxydante totale (TAC)

Le principe de ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par les réducteurs présents dans l'échantillon. Le composé phosphomolybdate formé est de couleur verte et il absorbe à une longueur d'onde de 695 nm (Moualek, 2018).

Pour ce test, un volume de 100 µl de chaque extrait a été mélangé avec 1 ml de la solution de travail (0.6 M d'Acide sulfurique, 335.9 mg de phosphate de sodium et molybdate

d'ammonium hydraté 4 mM), puis incubée 90 min à 95°C. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm. Le contrôle contient 100 µl de méthanol et 1 ml de solution de travail (Baali *et al.*, 2019).

La capacité antioxydante totale est exprimé en microgramme équivalents d'acide ascorbique par milligramme d'extrait (µg EAA / mg d'extrait) par référence à une courbe d'étalonnage de la vit C (10-250 µg/ml).

2.3.4 Pouvoir réducteur (FRAP)

Le pouvoir réducteur est estimé par l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} ($FeCl_3$) en fer ferreux Fe^{2+} en présence d'un agent chromogène qui est le ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (Bijoy *et al.*, 2008). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Öztürk *et al.*, 2007).

Un volume de 375 µL d'extrait à différentes concentration est additionné à 375 µL de tampon phosphate (0,2 mM, pH=6,6) suivi de 375 µL de ferricyanure de potassium à 1%. Après une agitation le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 min, puis 375 µl d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés au mélange avant d'être centrifugé à 700 tr/min pendant 10 min. Un volume de 375 µL du surnageant a été mélangé avec 375 µL d'eau distillé et 150 µL de chlorure ferrique (0.1%) dans des tubes à essai. Après l'absorbance a été mesurée à 700 nm. Pour le control l'extrait a été remplacé par le méthanol (Oyaizu, 1986).

Chapitre 5 : Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

1.1 Rendement de l'extrait éthanolique

Pour l'obtention des différents extraits à partir de la poudre de la partie aérienne de la plante *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus*, nous avons réalisé une extraction par macération hydro-éthanolique. Le rendement d'extraction éthanolique le plus important est celui de l'extrait d'éthanol 70% avec 11.445%, suivi par 9.430% de l'éthanol 50%, enfin l'extrait de l'éthanol 100% avec 6.735% (fig. 8).

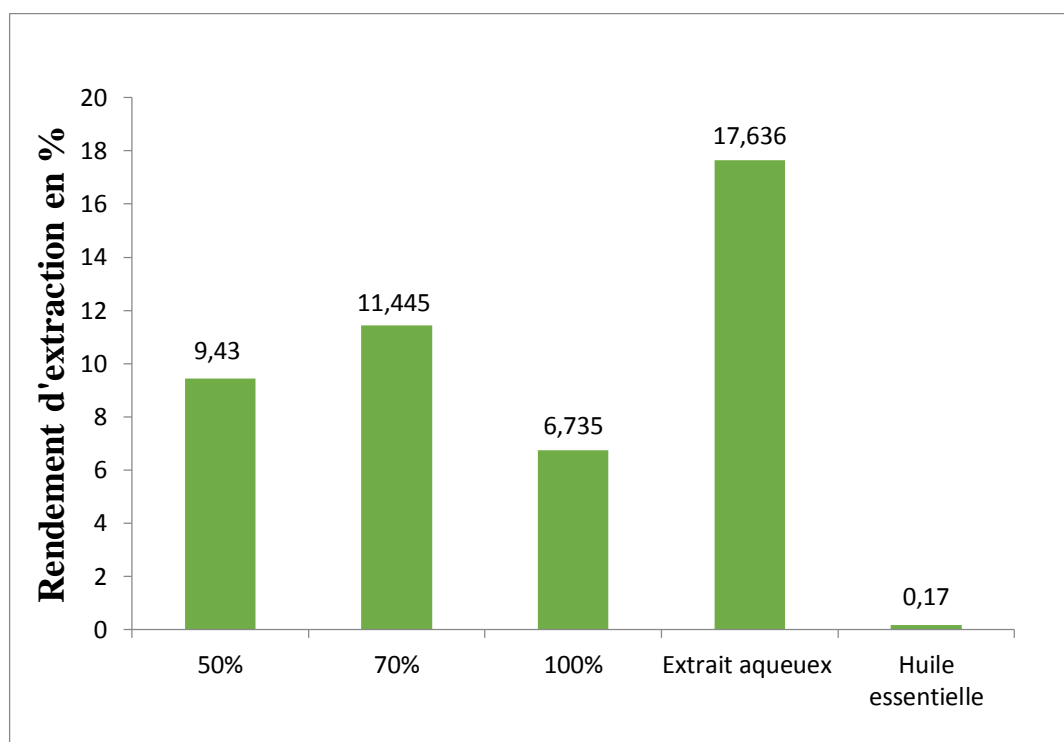


Figure 8. Histogramme du rendement de l'extraction des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus*.

Ozen *et al.*, (2011), ont trouvé que le rendement de l'extrait éthanolique 100% de *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* était 5.3% ce qui est donc inférieur par rapport à nos résultats. Pour l'extrait méthanolique 100%, ils ont trouvé 2.6%, ce résultat est aussi inférieur par rapport à nos résultats. Le rendement de l'extrait éthanolique à 50% de *Thymus vulgaris* (18.43%) et celui de l'extrait éthanolique 80% était (20.05%), ces deux résultats étaient supérieurs à nos résultats (Mehmood *et al.*, 2015).

Le rendement d'extraction dépend du solvant, du temps et de la température d'extraction ainsi que sur les types de composés actifs de l'échantillon (Öztürk, 2015).

1.2 Rendement des huiles essentielles

Nos résultats montrent un rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* de l'ordre de 0.17%, ce qui est supérieur au rendement trouvé par Bendif *et al.*, (2018) pour la plante *Thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (0.11%), et de *Thymus munbyanus* subsp. *munbyanus* (0.09%). Un rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Thymus Ciliatus* de l'ordre de 1,2% a été mentionné dans l'étude d'Amarti *et al.* (2010). Selon Amiri, (2012), les huiles isolé par hydrodistillation des parties aériennes de *T. kotschyanus*, *T. eriocalyx* et *T. daenensis* subsp. *lancifolius* donnent un rendement entre 1.55 et 2.11%, ce qui est encore une fois supérieur par rapport à nos résultats.

La différence dans le rendement en huiles essentiels est due au moment de la récolte, qui a un effet direct sur la quantité et la composition de l'huile obtenue. En effet, le rendement en huile essentielle augmente plus à l'étape de floraison (Souadia, 2022).

1.3 Rendement de l'extrait aqueux

Notre résultat pour l'extrait aqueux sont de l'ordre de $17.63 \pm 0.558\%$, ce qui est supérieur à celui trouvé par Haile *et al.*, (2021) (11.4%). Ozen *et al.*, (2011), ont trouvé que le rendement de l'extrait aqueux était de l'ordre de 9.3%, donc inférieur par rapport à nos résultats. Le rendement de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* est inférieur par rapport à nos résultats (9.64%) (Mehmood *et al.*, 2015). Selon Bendif *et al.*, (2018), le rendement de l'extrait aqueux de *T. munbyanus* subsp. *Munbyanus* est de l'ordre de 9.3% ce qui est inférieur par rapport à nos résultats. Par contre ils ont trouvé que le rendement de *T. munbyanus* subsp. *Coloratus* est de l'ordre de 21.2%, ce résultat est supérieur par rapport à nos résultats. Bien que notre extrait aqueux est formé à partir de la solution issue de l'extraction des huiles essentiels, mais il a un rendement supérieur par rapport à d'autre résultats.

Les extraits aqueux des plantes sont connus pour être riches en phénols polaires et en flavonoïdes hautement polaires (flavonoïdes di-, tri- et tétra- glycosylés), tandis que le méthanol peut extraire les flavonoïdes, les aminoacides, les terpènes et les cires (Boussoualim, 2014).

2. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénol totaux des parties aérienne de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* est faite par l'utilisation de réactif de Folin-Ciocalteu, et l'utilisation des différentes concentrations d'acide gallique comme standard (5 à 150 µg /ml) (fig. 9).

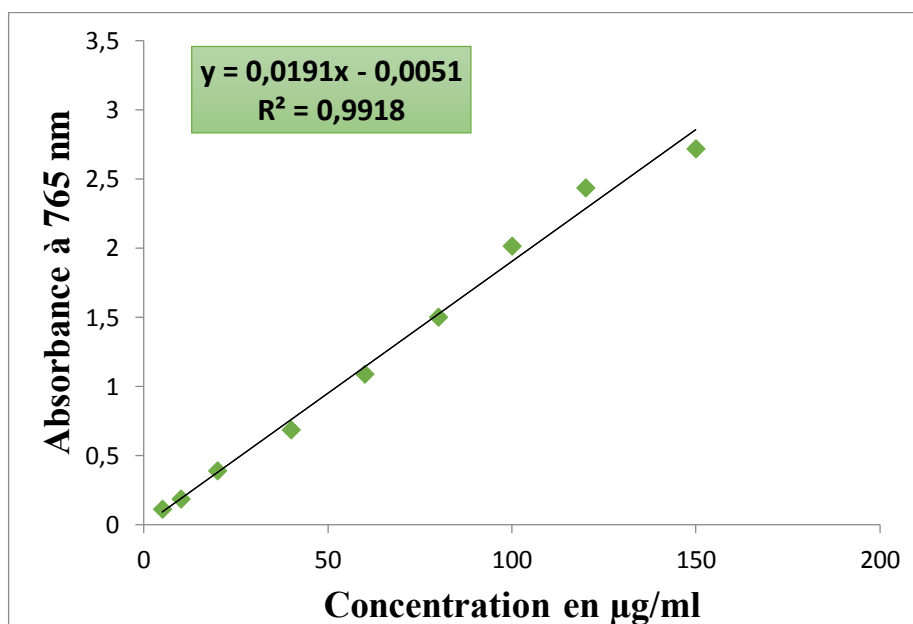


Figure 9. Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

La quantité des polyphénols totaux dans les fractions est exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extraits). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 10.

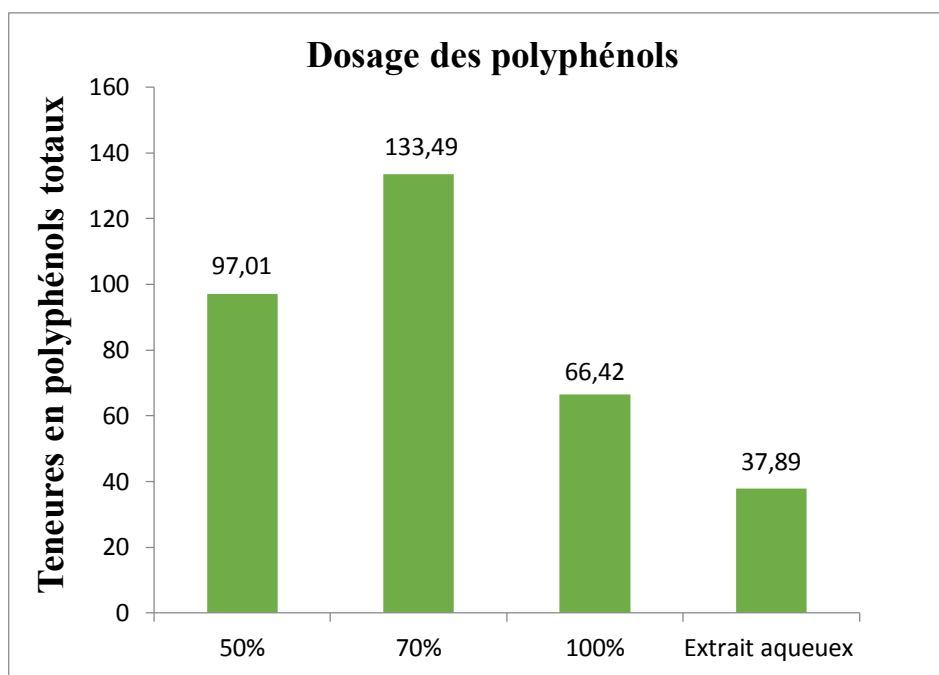


Figure 10. Teneur des extraits en polyphénol totaux en µg EAG / mg d'extrait

Les résultats de la figure 10 montrent que l'extrait 70% est le plus riche en polyphénols totaux par sa teneur de 133.49 ± 3.34 µg EAG /mg d'extrait, suivi par l'extrait 50% représenté par une teneur de 97.01 ± 13.78 µg EAG /mg d'extrait, puis l'extrait 100% avec une teneur de 66.42 ± 4.19 µg EAG /mg d'extrait, la teneur la plus faible correspond donc à l'extrait aqueux (37.89 ± 2.92 µg EAG /mg d'extrait).

Dans l'étude effectuée par Jovanović *et al.*, (2017), l'extrait éthanolique 50% de *T. serpyllum* contenait une teneur en polyphénols totaux de 19.56 mg EAG/L d'extrait, et une teneur de 22.60 mg EAG/L obtenu par extraction assistée par la chaleur et une teneur 24.94 ± 4.81 mg EAG/L obtenu par extraction assistée par ultrasons, ces résultats des trois méthodes sont largement inférieur à nos résultats pour le même extrait éthanolique 50%, prenant en considération la différence d'unité de mesure. D'après les résultats obtenus par El-Newary *et al.*, (2017), l'extrait éthanolique 70% de *Thymus vulgaris* contient une teneur 214.55 mg EAG / g d'extrait en polyphénols totaux, ce résultat est largement supérieur à nos résultats pour le même extrait éthanolique 70%. Les résultats de Petrović *et al.*, (2017), qui ont travaillé sur la plante *Thymus dacicus*, montrent que l'extrait méthanolique contient une teneur de 178.83 mg EAG/g d'extrait en polyphénols totaux, ce qui est supérieur à notre résultat pour le même extrait éthanolique 100%. Une étude présentée par Salhi *et al.*, (2016) sur la plante *T. algeriensis*, l'extrait aqueux contient une teneur 117.50 mg EAG/g d'extrait, ce résultat est supérieur à ce que nous avons obtenu pour le même extrait. Dans une autre étude réalisée sur

la plante *Thymus Satureioides*, l'extrait aqueux a donné une teneur de 47.5 mg EAG/g d'extrait (Fadili *et al.*, 2015). Ce résultat est supérieur à notre résultat pour le même extrait.

3. Dosage des flavonoïdes totaux

Une courbe d'étalonnage de quercétine (5 à 50 µg/ml) est utilisée pour la quantification des flavonoïdes totaux dans les différents extraits (fig. 11).

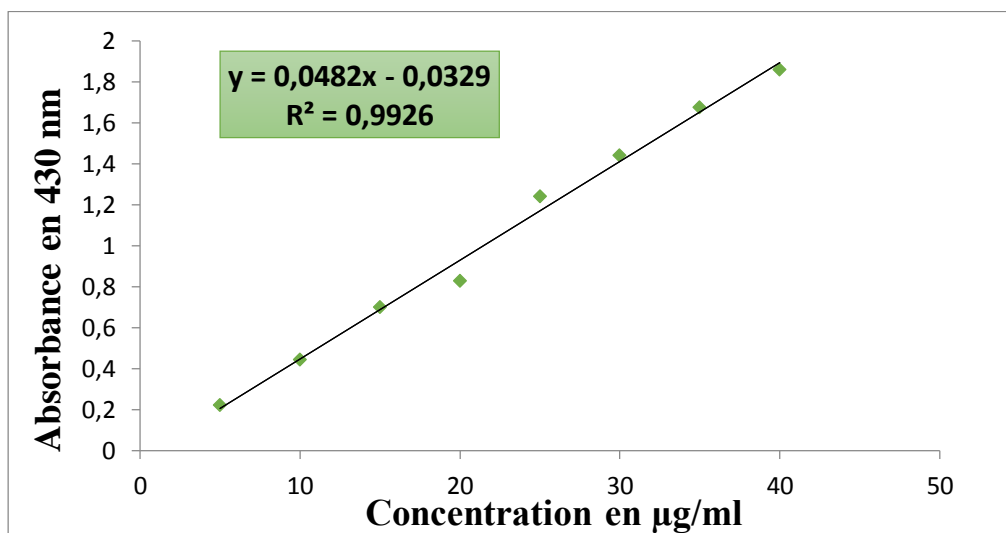


Figure 11. Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent quercétine par un milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait). Les résultats obtenus ont été montrés dans la Figure 12.

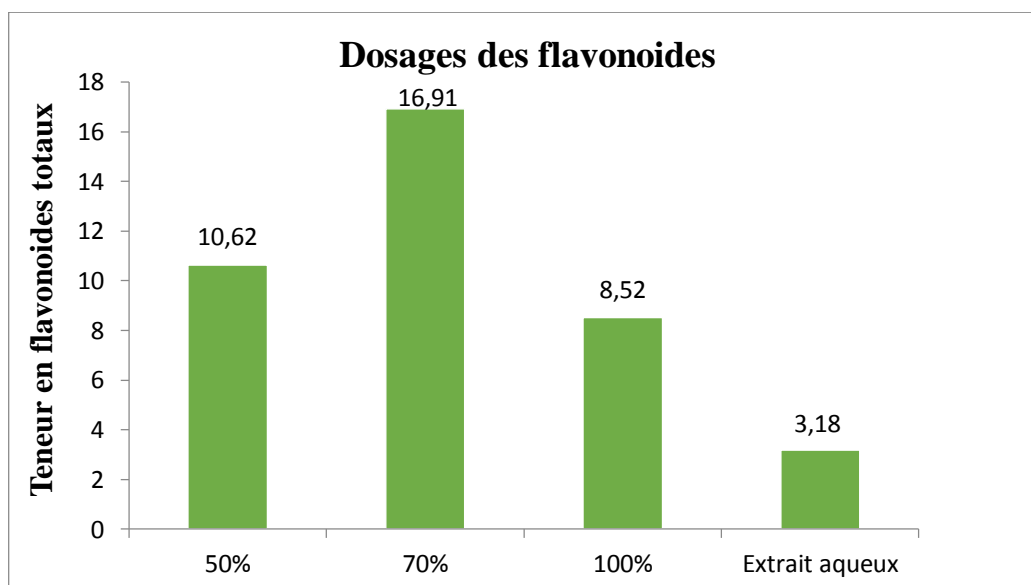


Figure 12. Teneur des extraits en flavonoïdes totaux en µg EQ / mg d'extrait

Les résultats montrés dans la figure précédente montrent que l'extrait éthanolique 70% est le plus riche en flavonoïdes totaux avec une teneur de $16.916 \pm 0.813 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait, suivi par l'extrait éthanolique 50% de l'ordre de $10.624 \pm 1.086 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait, puis l'extrait éthanolique 100% avec $8.527 \pm 0.271 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$, enfin l'extrait aqueux est le plus pauvre en flavonoïdes totaux ($3.189 \pm 0.086 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait).

Dans une étude présentée par Mehmood *et al.*, (2015), qui ont travaillé sur la plante *Thymus vulgaris*, l'extrait éthanolique 50% contient une teneur de 85.39 mg EQ / g d'extrait en flavonoïdes totaux, ce résultat est supérieur à notre résultat pour le même extrait éthanolique. L'extrait éthanolique 100% de la même étude est représenté par une teneur de 155.57 mg EQ / g d'extrait, ce résultat est supérieur aussi par rapport à nos résultats. Enfin, la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux est largement supérieure à nos résultats.

En ce qui concerne l'extrait éthanolique à 100%, notre résultat est supérieur à celui rapporté par Özen *et al.*, (2011), avec une valeur de 0,53 mg EQ/g d'extrait. En revanche, pour l'extrait aqueux, ils ont obtenu un résultat de 0,81 mg EQ/g d'extrait, ce qui est inférieur à nos résultats. Dans la même étude, concernant l'extrait méthanolique, leur résultat pour la teneur en flavonoïdes totaux était de 0,33 mg EQ/g d'extrait, également inférieur à nos résultats.

Une autre étude réalisée par Amiri (2012) sur les plantes *T. kotschyanus* (sous-fraction polaire), *T. kotschyanus* (sous-fraction non polaire), *T. daenensis subsp. lancifolius* (sous-fractions polaires), *T. daenensis subsp. lancifolius* (sous-fractions non polaires), *T. eriocalyx* (sous-fraction polaire), *T. eriocalyx* (sous-fraction non polaire) a révélé que l'extrait méthanolique présente des teneurs en flavonoïdes totaux respectives de 36,7 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, 8,7 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, 48,8 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, 16,4 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, 25,5 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, 13,2 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait. Ces résultats sont nettement supérieurs à nos propres résultats.

Dans une étude menée par Bendjabeur *et al.*, (2018) sur la plante *T. algeriensis*, la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique à 100% était d'environ 45,12 mg EQ/g d'extrait, ce qui est supérieur à nos résultats. De même, pour la plante *Teucrium polium*, la teneur en flavonoïdes totaux était de 25,33 mg EQ/g d'extrait, également supérieure à nos résultats. Selon Gedikoğlu *et al.*, (2019), la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique à 80% de la plante *Thymus vulgaris* était 6,17 mg EQ/g d'extrait, inférieur à nos résultats pour l'extrait éthanolique à 70%. Dans la même étude, ils ont constaté que la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique à 80% était inférieure à nos résultats.

4. Dosage des flavonols

Une courbe d'étalonnage de la rutine (5 à 150 $\mu\text{g/ml}$) est utilisée pour la quantification des flavonols dans les différents extraits (fig. 13). Les essais ont été réalisés en triplicata.

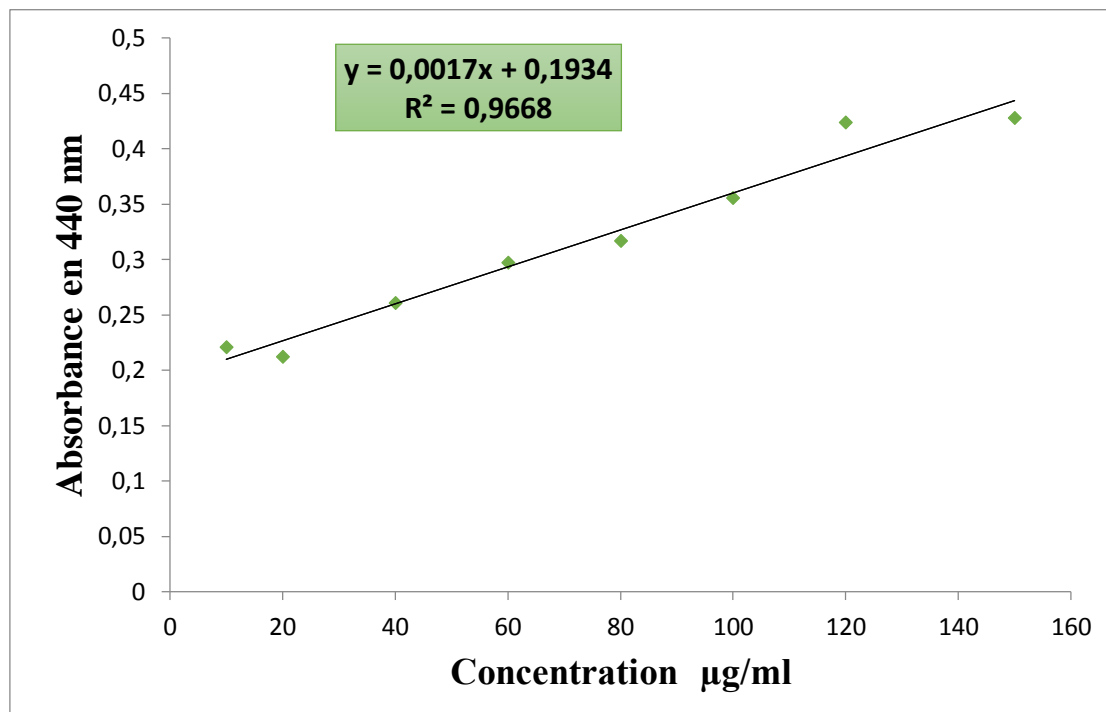


Figure 13. Droite d'étalonnage de la rutine pour le dosage de flavonol.

La quantité des flavonols a été rapportée en microgramme d'équivalente rutine par un milligramme d'extrait ($\mu\text{g ER/mg d'extrait}$). Les résultats obtenus ont été montrés dans la figure 14.

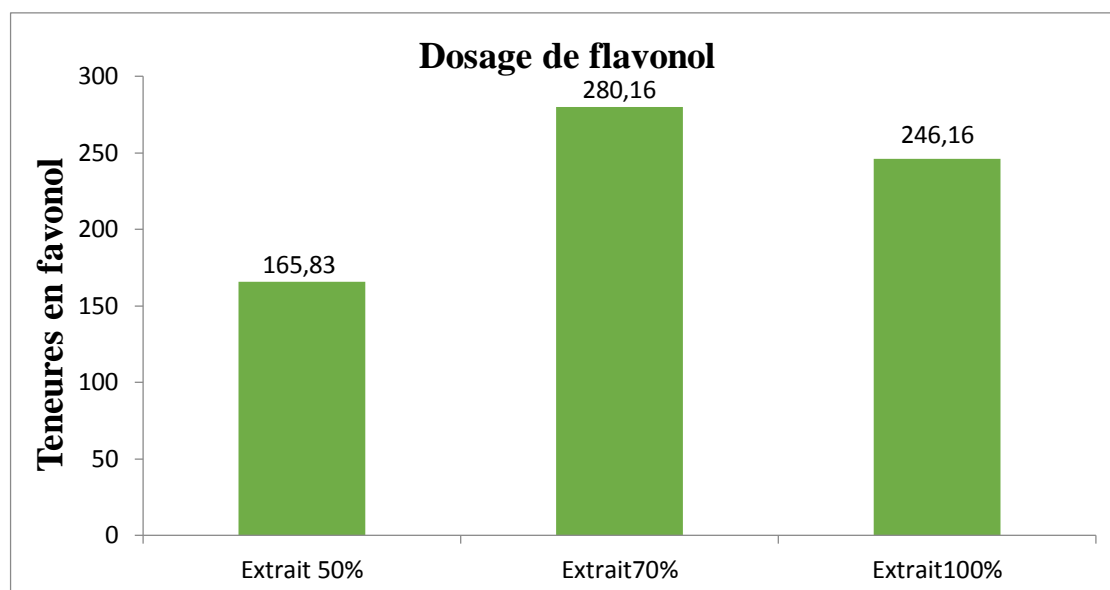


Figure 14. Teneur des extraits en flavonol exprimée en µg ER / mg d'extrait.

Les résultats montrés dans la figure précédente montrent que l'extrait éthanolique 70% est le plus riche en flavonols avec une teneur 280.16 ± 293.767 µg ER / mg d'extrait, suivi par l'extrait éthanolique 100% de l'ordre de 246.166 ± 16.258 µg ER / mg d'extrait, enfin l'extrait éthanolique 50% qui est le plus pauvre en flavonols (165.833 ± 15.085 µg ER / mg d'extrait). Pour l'extrait aqueux, nous avons testé les concentrations 1mg/ml et 2mg/ml, mais nous avons obtenu des résultats négatifs, parce que l'extrait aqueux contient une très faible teneur en flavonols.

Dans une étude réalisée par Prabhakaran et Shwetha, (2013), la teneur en flavonol de l'extrait éthanolique 70% de la plante *Thymus vulgaris* est de l'ordre de 65.69 mg ER / g d'extrait, ce résultat est inférieur par rapport à nos résultat. Selon Öztürk, (2015), la teneur en flavonols de l'extrait méthanolique 70% des plantes *Thymus longicaulis* C Presl. subsp. *longicaulis* var. *longicaulis* et *Thymus longicaulis* C Presl. subsp. *longicaulis* var. *subisophyllus* sont 3.92 et 4.12 mg ER / g d'extrait, respectivement. Ces résultats sont largement inférieurs par rapport à nos résultats pour le même extrait. Salhi *et al.*, (2018), ont travaillé sur l'extrait méthanolique 100% et l'extrait d'acétate d'éthyl 100% de la plante *Thymus algeriensis*, les résultats sont 34.00 et 17.81 mg EQ/ g d'extrait, respectivement. Ces résultats sont largement inférieurs par rapport à nos résultats pour l'extrait éthanolique 100%, avec une différence dans l'unité de mesure.

Nos résultats sont aussi supérieurs à ceux trouvés par Abramovič *et al.*, (2018), qui ont travaillé sur l'extrait éthanolique 96% d'une plante du genre *Thymus* (*Thymus* sp.) de l'ordre de 1.00 mg ER / g d'extrait. Dans une autre étude réalisée par Maleš *et al.*, (2022), avec le même extrait éthanolique 96% mais avec d'autre plante (*Thymus serpyllum* L.), ils ont trouvé une teneur en flavonols 0.96 g / L. Ce résultat est inférieur par rapport à nos résultats de l'extrait éthanolique 100%, avec une différence de l'unité de mesure.

5. Dosage des triterpènes

L'estimation des teneurs en triterpènes dans les parties aérienne de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* se fait par la méthode de Chang, (2012), le standard utilisé est l'acide ursolique avec différents concentration (1 à 300 µg /ml).

Les concentrations en triterpènes ont été déterminées à partir de droite d'étalonnage ayant l'équation de type : $y = 0.001 x + 0.243$ (fig. 15).

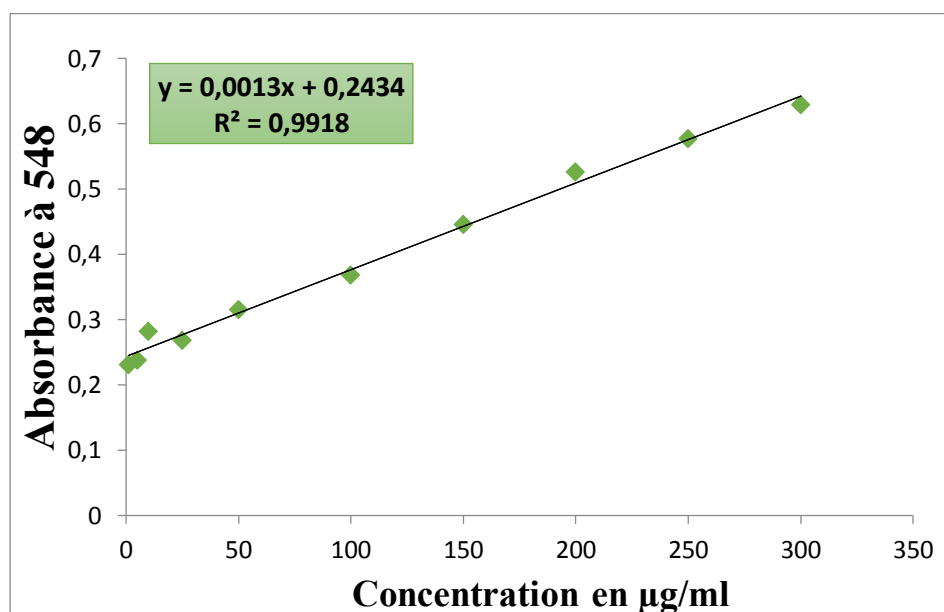


Figure 15. Droite d'étalonnage de l'acide ursolique pour le dosage des triterpénoïdes.

La quantité des triterpènes est exprimée en microgramme équivalent de l'acide ursolique par mg d'extrait. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 16.

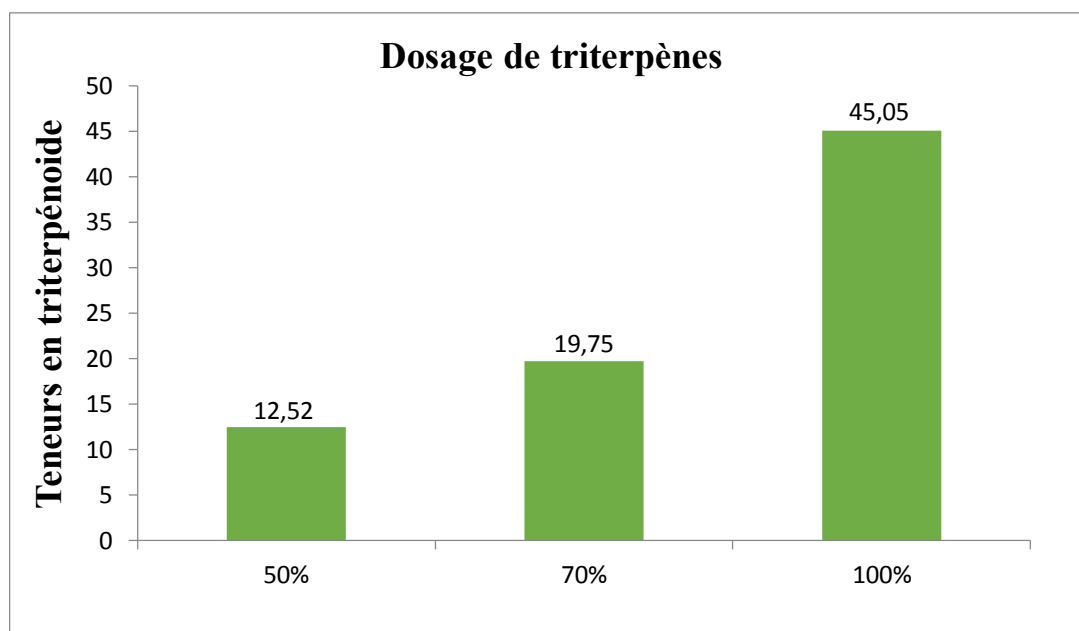


Figure 16. Teneur des extraits en triterpénoïde en µg EAU / mg d'extrait.

Les résultats de la figure 16 montrent que l'extrait éthanolique 100% est le plus riche en triterpènes avec une teneur 45.05 ± 1.72 µg EAU/mg d'extrait, suivie par l'extrait éthanolique 70% qui renferme une teneur de 19.75 ± 4.58 µg EAU/mg d'extrait, puis l'extrait éthanolique 50% avec la plus faible teneur en triterpènes 12.52 ± 2.59 µg EAU/mg d'extrait.

Pour l'extrait aqueux, nous avons testé les concentrations 1.5mg/ml et 3mg/ml, mais nous avons obtenu des résultats négatifs, parce que l'extrait aqueux contient une très faible teneur en triterpènes, à cause de la faible solubilité dans l'eau et la haute liposolubilité des terpènes (Furtado *et al.*, 2017).

Dans une étude présentée par Habashy *et al.*, (2018), qui ont travaillé sur la Plante *Thymus vulgaris*, l'extrait aqueux contient une teneur 108.80 mg EAU/g d'extrait, ce résultat est largement supérieur à notre résultat pour les trois extraits éthanolique.

Une autre étude réalisée par Samreen *et al.*, (2019) prouve la présence des triterpènes dans les feuilles de *Thymus vulgaris* obtenu d'Arabie saoudite, par contre Hossain *et al.*, (2013) a eu des résultats négatifs des feuilles de *T.vulgaris* du Sultanat d'Oman avec différents solvants tel que le méthanol, l'hexane, l'acétate d'éthyl, le chloroforme et le butanol.

Lors de la croissance de la plante des changements peuvent être effectués suite à la distribution des métabolites secondaires car ils sont conditionnés par les effets climatiques tels que la haute température, les rayonnements solaires, le manque d'eau et le milieu salin. Cela engendrera la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols, cette dernière

dépend des facteurs par exemple périodicité de récolte, le solvant d'extraction et les conditions de stockage (Fadili *et al.*, 2015). La différence pourrait être attribuée aussi à plusieurs facteurs tels que, l'ensoleillement, la nature et la composition du sol (Salhi *et al.*, 2016).

6. Evaluation des activités antioxydantes

6.1 Piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire contre le DPPH• a été évaluée par spectrophotométrie. La quercétine et l'acide ascorbique sont utilisés comme standards antioxydants. Pour une meilleure comparaison de l'activité anti radicalaire entre nos extraits et les standards, on utilise le trolox comme référence avec différentes concentrations (fig. 17).

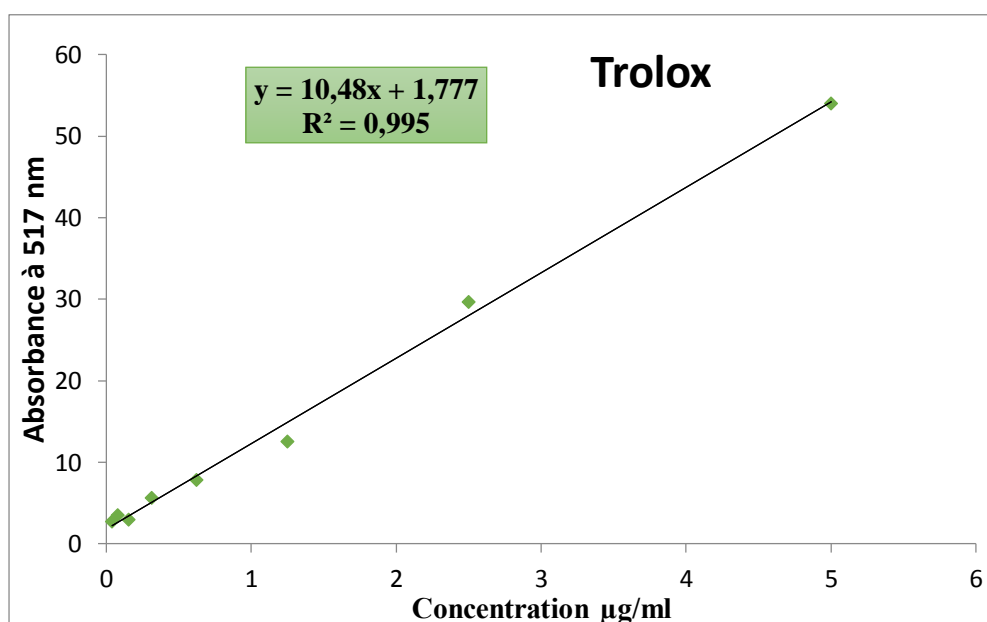


Figure 17. Droite d'étalonnage du trolox pour le teste de piégeage du radical libre DPPH•.

Les résultats obtenus de l'activité anti-radicalaire du DPPH des différents extraits des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* sont montrés dans la figure 18.

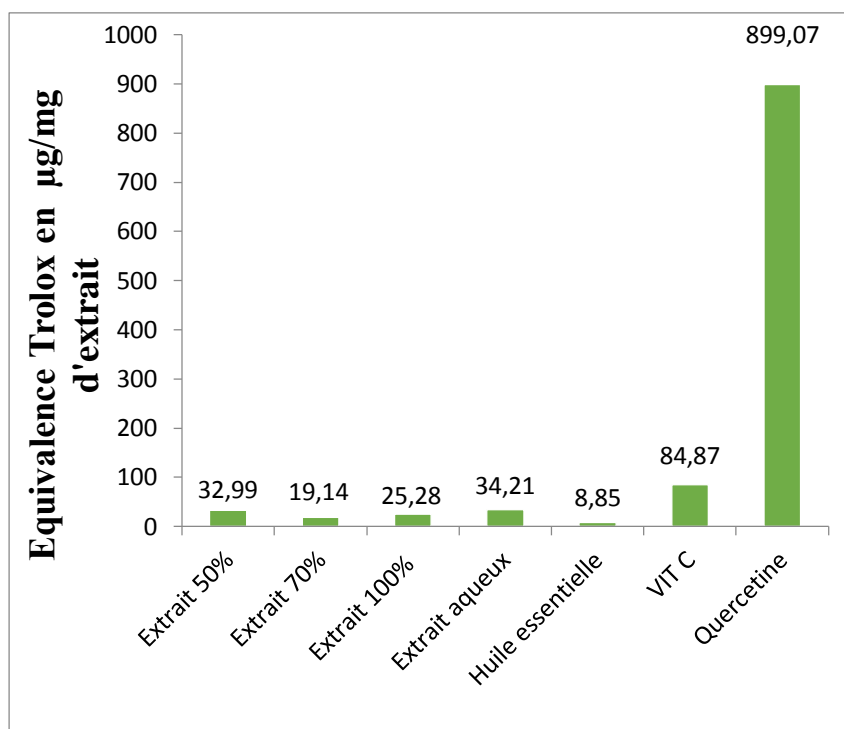


Figure 18. Activité anti-radicalaire contre le DPPH• des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* et les standards.

D'après la figure 18, l'extrait aqueux possède l'activité anti-radicalaire contre le DPPH la plus importante avec 34.21 ± 0.55 µg ET/ mg d'extrait, suivi par l'extrait éthanolique 50% avec une activité anti-radicalaire DPPH 32.99 ± 2.46 µg ET/ mg d'extrait, puis l'extrait éthanolique 100% avec 25.28 ± 13.22 µg ET/ mg d'extrait, suivi par l'extrait éthanolique 70% avec 19.14 ± 5.29 µg ET/ mg d'extrait, l'activité anti-radicalaire du DPPH la plus faible est celle des huiles essentielles 8.85 ± 4.53 µg ET/ mg d'extrait.

Tandis que le standard quercetine, a l'activité anti-radicalaire contre le DPPH la plus forte 899.07 ± 1.34 µg ET/ mg de quercetine, est supérieur à celle de standard acide ascorbique est 84.87 ± 0.22 µg ET/ mg d'acide ascorbique, l'activité anti-radicalaire contre le DPPH de nos extraits inférieur par rapport au standards utilisés.

Bulut *et al.*, (2020), ont travaillé sur les feuilles de la plante de *Thymus Vulgaris* L., l'extrait éthanolique 50% a donné une activité anti-radicalaire contre le DPPH 0.09 µg ET/ mg d'extrait, ce résultat est inférieur à nos résultat pour le même extrait éthanolique 50%. Dans la même étude, l'extrait aqueux de *Thymus Vulgaris* L., a donné une activité anti-radicalaire contre le DPPH 0.08 µg ET/ mg d'extrait, ce résultat est inférieur à notre résultat pour le même extrait.

L'extrait éthanolique 70% de *Thym*, a donné une activité anti-radicalaire contre le DPPH (0.07 µg ET/ mg d'extrait), inférieur à nos résultat Bulut *et al.*, (2020).

Dans une étude présenter par Bendif *et al.*, (2018), qui ont travaillé sur la plante *T. munbyanus*, l'extrait éthanolique a donné une activité anti-radicalaire contre le DPPH supérieur à nos résultat pour le même extrait éthanolique 100%.

6.2 Piégeage du radical cation ABTS+

Les résultats qui montrent l'inhibition du radical libre ABTS+ par les extraits sont représentés dans la figure 19, et celle des standards sont représentés dans la figure 20. Les résultats montrent que l'effet anti-radicalaire de tous nos extraits augmente en fonction de la concentration puis stabilise.

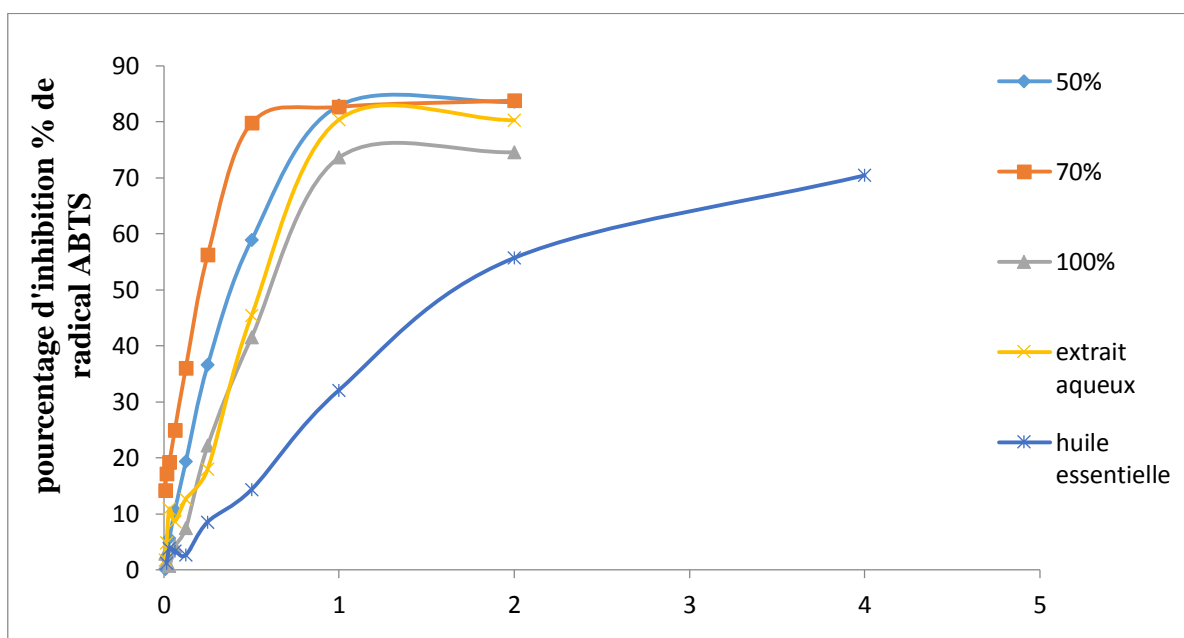


Figure 19. Activité anti radicalaire des extraits 50%,70%,100%, l'extrait aqueux et l'huile essentielle des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* vis-à-vis le radical ABTS+ Chaque valeur représentée la moyenne des trois essais.

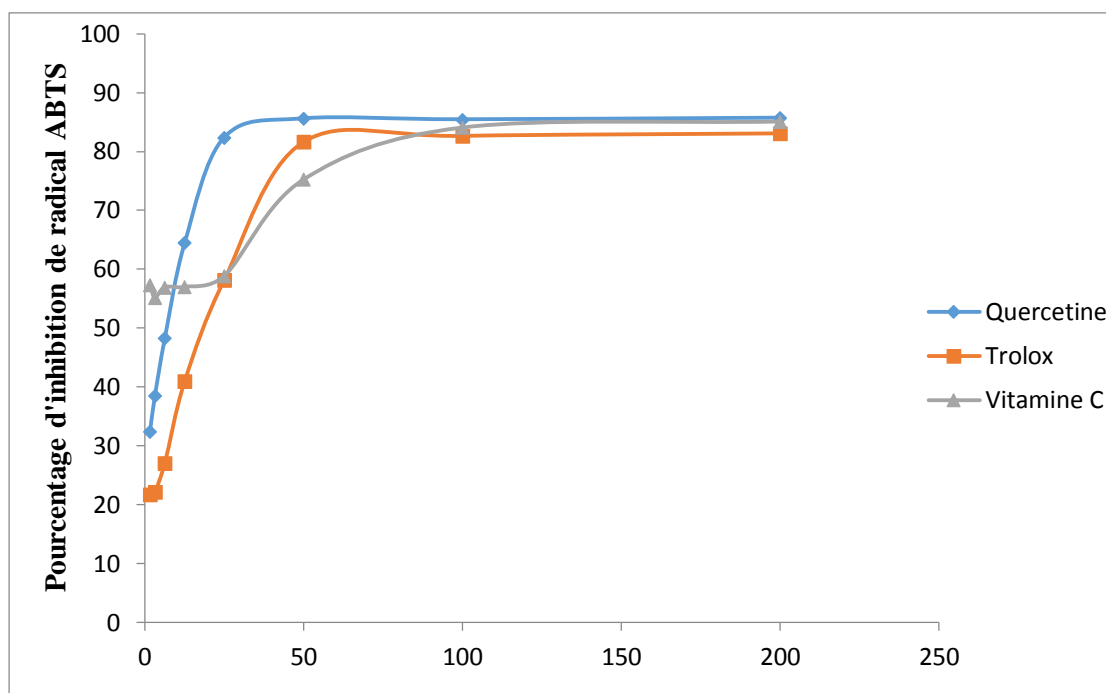


Figure 20. Activité anti radicalaire des standards quercetine, trolox et vitamine C vis-à-vis le radical ABTS+.

Pour une meilleure comparaison entre nos extraits et les standards utilisés, nous avons calculé les TEAC_s (Capacité antioxydante équivalente au trolox) obtenus à partir de la courbe d'étalonnage du trolox (fig. 21), plus la valeur de TEAC est élevée, plus la molécule est active. Les résultats de comparaison sont représentés dans la figure 22.

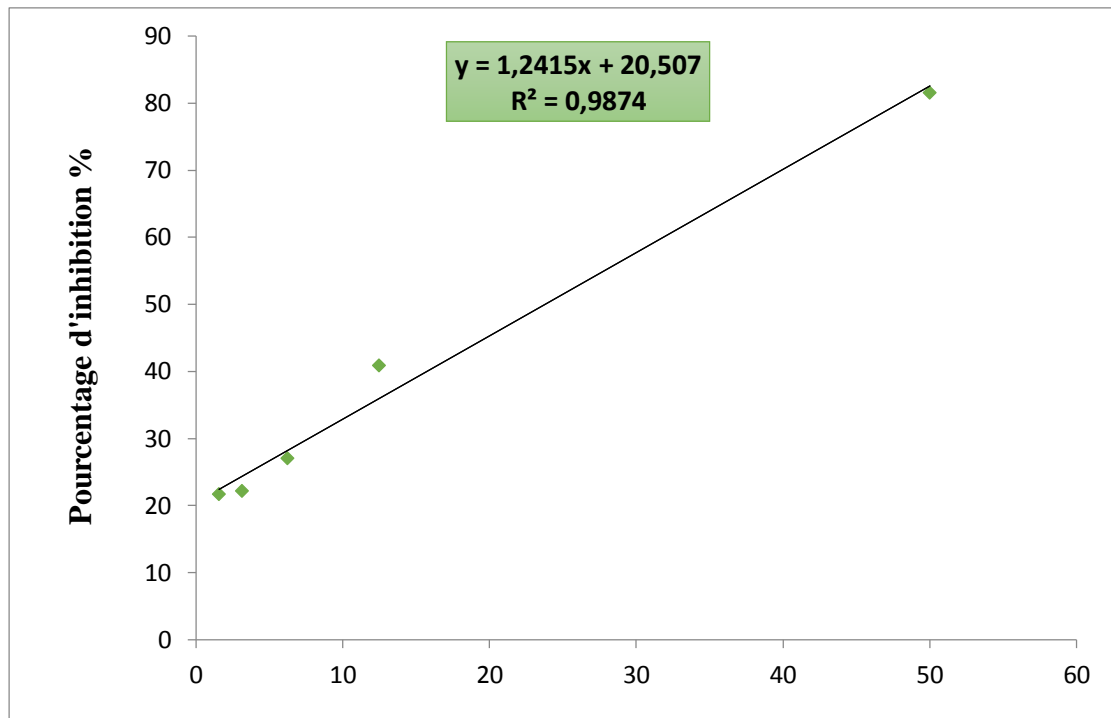


Figure 21. Droite d'étalonnage du trolox pour le teste de piégeage du radical ABTS+.

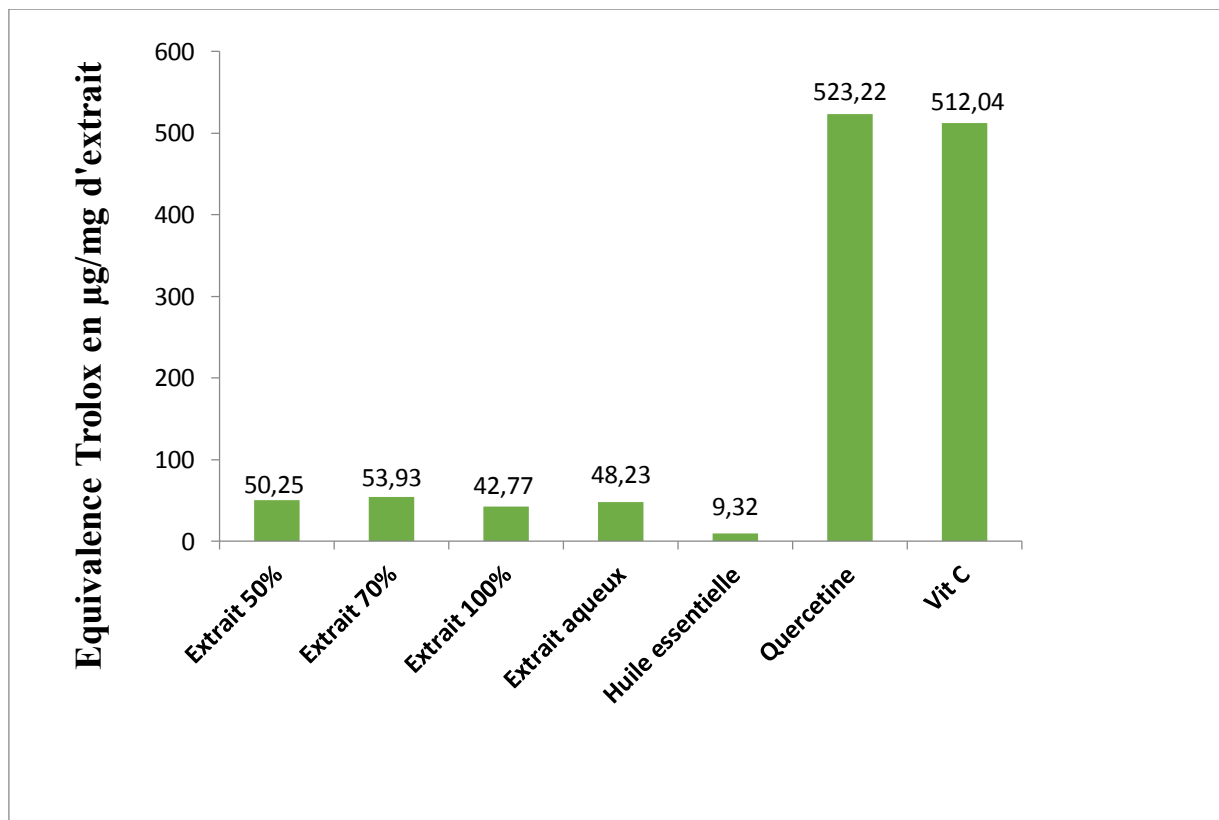


Figure 22. Résultats de comparaison de radical ABTS+ des parties aérienne de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* et des standards.

D'après les résultats obtenus dans la figure 22, parmi les extraits, celui qui a présenté une activité anti radicalaire importante vis-à-vis le radical ABTS⁺ est l'extrait éthanolique 70% avec $53.937 \pm 0.575 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, suivie par l'extrait éthanolique 50% avec $50.258 \pm 0.577 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, puis l'extrait aqueux avec $48.237 \pm 2.001 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, après l'extrait éthanolique 100% avec $42.776 \pm 3.750 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, enfin l'extrait des huiles essentielle avec $9.323 \pm 2.905 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$.

Les standards qui sont utilisé présentent des activités anti radicalaire plus importante vis-à-vis le radical ABTS⁺, la quercetine avec $523.225 \pm 0.800 \mu\text{g ET} / \text{mg}$ puis la vitamine C avec $512.045 \pm 0.408 \mu\text{g ET} / \text{mg}$, l'activité de nos extraits reste faible par rapport à ces standards.

Dans une étude réalisé par Balciunaitiene *et al.*, (2021), qui ont travaillé sur l'extrait éthanolique 70% de *Thymus vulgaris*, l'activité anti radicalaire vis-à-vis le radical ABTS⁺ est $240.278 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, supérieur par rapport à nos résultat pour le même extrait. Selon Miron *et al.*, (2011), l'activité anti radicalaire vis-à-vis le radical ABTS⁺ de l'extrait éthanolique 50% de *Thymus serpyllum*, est de l'ordre de $770.893 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, supérieur par rapport à nos résultats pour le même extrait.

Notre résultat pour les huiles essentielles est supérieur par rapport à ceux trouvé par Delgado-Adámez *et al.*, (2017), qui ont travaillé sur *Thymus mastichina* avec une activité anti radicalaire vis-à-vis le radical ABTS⁺ de l'ordre de $0.75 \text{ g trolox} / \text{L HE}$.

Aljabeili *et al.*, (2018), ont trouvé que les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* présentent une activité anti radicalaire vis-à-vis le radical ABTS⁺ de l'ordre de $48.155 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$. Ce résultat est supérieur par rapport à nos résultats pour le même extrait. Amamra, (2018), a travaillé sur le *Thymus vulgaris*, il a trouvé que l'activité anti radicalaire vis-à-vis le radical ABTS⁺ de l'extrait aqueux était $0.222 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, inférieur par rapport à nos résultats pour le même extrait. Dans la même étude mais avec l'extrait méthanolique 100%, il a trouvé que l'activité anti radicalaire vis-à-vis le radical ABTS⁺ est de l'ordre de $1.003 \mu\text{g ET} / \text{mg d'extract}$, inférieur par rapport à notre résultat pour l'extrait éthanolique 100%.

6.3 Capacité antioxydante totale TAC

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide ascorbique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAA} / \text{mg d'extrait}$). Ils ont calculé en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (fig. 23).

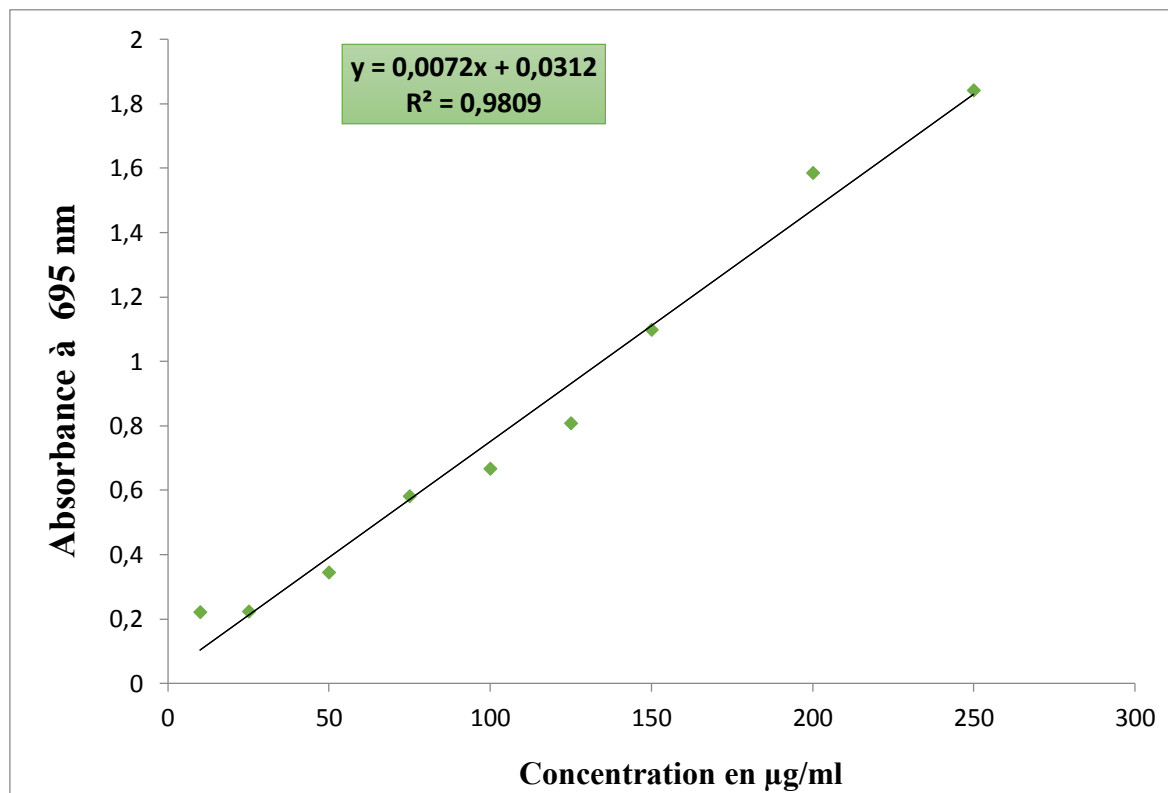


Figure 23. Droite d'étalonnage d'acide ascorbique de teste de Capacité antioxydante totale.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante totale des différents extraits de la partie aérienne de *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* sont montrés dans la figure 24.

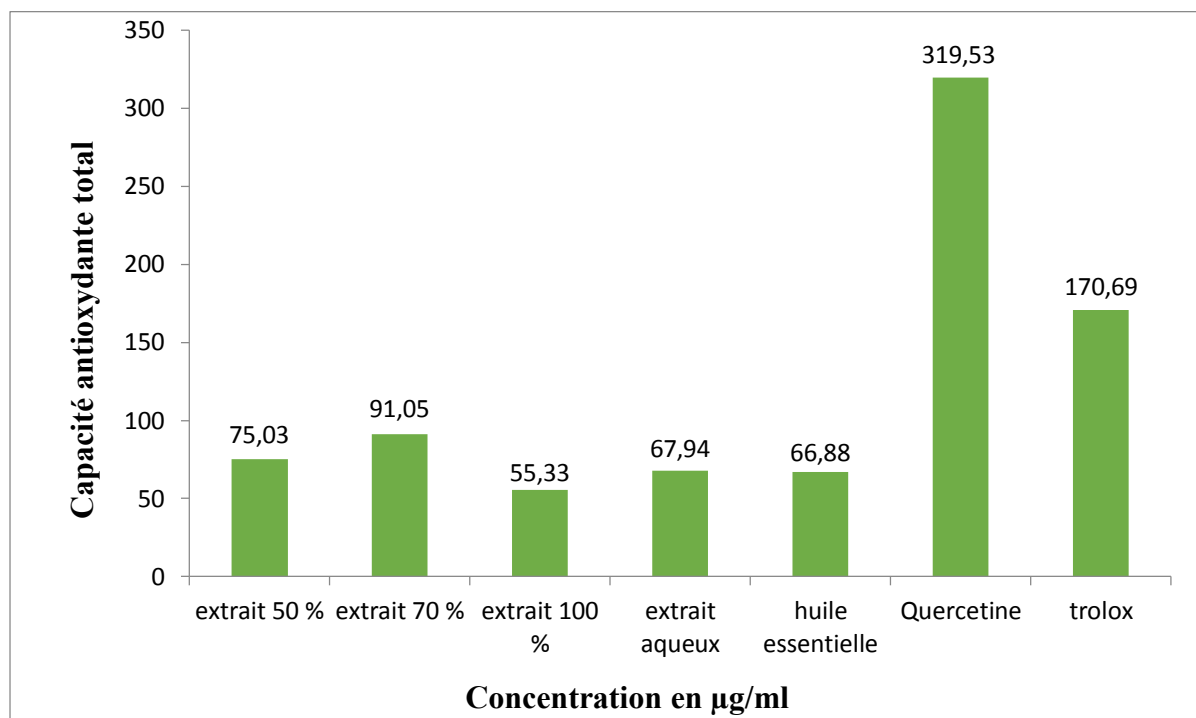


Figure 24. L'activité antioxydante totale des extraits 50%,70% et 100%, l'extrait aqueux et l'huile essentielle des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* et les standards quercetine et trolox.

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique 70% possède l'activité antioxydante totale (TAC) la plus importante avec 91.050 ± 14.372 , suivie par l'extrait 50% avec une TAC 75.032 ± 9.861 , après l'extrait aqueux avec une TAC 67.949 ± 3.714 , puis l'huile essentielle avec une TAC 66.884 ± 3.275 , enfin l'extrait éthanolique 100% avec une TAC 55.333 ± 1.523 µg EAA / mg d'extrait. Les standards utilisés possèdent des activités antioxydantes différentes. Le standard quercetine ayant la meilleur TAC de l'ordre de 319.537 ± 8.738 , suivie par le trolox avec une TAC 170.694 ± 3.425 µg EAA / mg. Ces résultats sont supérieurs par rapport à nos extraits.

En outre, une étude réalisée par Elgamouz *et al.*, (2020), ont trouvé que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, possède une activité antioxydante totale de 350.71 µg EAA / mg d'extrait, supérieur à notre résultat. Kindl *et al.*, (2015), ont réalisé une étude sur l'extrait éthanolique 70% de différentes espèces de *Thymus*: *T. longicaulis*, *T. praecox* subsp. *polytrichus*, *T. pulegiodes*, *T. serpyllum* subsp. *serpyllum*, *T. striatus* et *T. vulgaris*. Ils ont trouvé des résultats supérieurs par rapport à nos résultats pour le même extrait.

D'après les résultats de Jabri-Karoui *et al.*, (2012), la Capacité antioxydante totale de l'extrait méthanolique 100% des fleurs de *Thymus capitatus* est inférieur par rapport à notre résultat de l'extrait éthanolique 100%. Mazandarani et Ghafourian, (2017), ont trouvé que la capacité antioxydante totale de l'extrait éthanolique 80% de *Thymus kotchyanus* L. avec deux différentes méthodes d'extraction (macération et ultrasonique) est inférieur par rapport à nos résultats pour l'extrait éthanolique 70%. Selon Aydin, Sinem et Caniklioğlu, Ayşegül, (2021), la capacité antioxydante totale de l'extrait aqueux de *Thymus* sp. est 53.75 mg EAA/ml inférieur par rapport à nos résultat pour le même extrait.

6.4 Pouvoir réducteur FRAP

Nous avons utilisé l'acide ascorbique comme référence avec différentes concentrations (3.125 à 100 µg/ml) (fig. 25). Le pouvoir réducteur obtenus à partir des extraits éthanoliques, aqueux et huiles essentielles a été estimée grâce à une courbe, réalisée avec l'acide ascorbique à différentes concentrations.

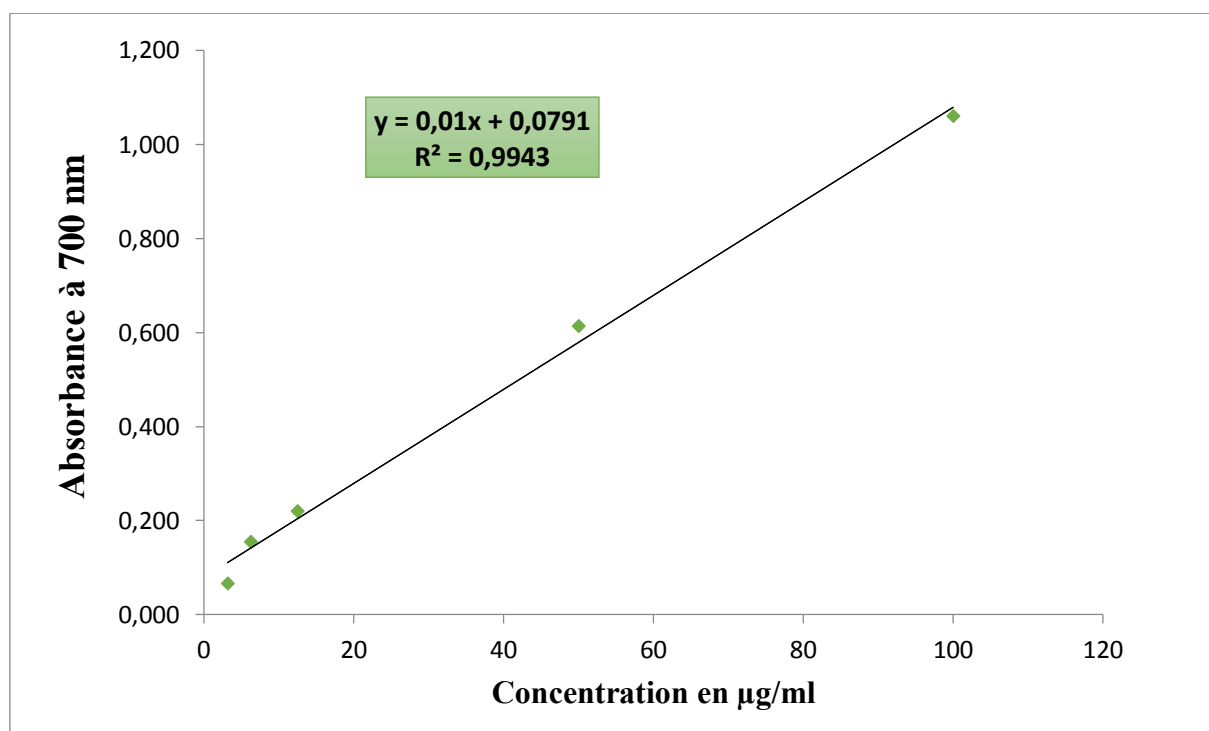


Figure 25. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique du teste de pouvoir réducteur.

Les résultats sont exprimés en équivalence acide ascorbique en µg/mg d'extrait, la comparaison se fait pour la concentration 1 mg/ml. Les résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (fig. 26).

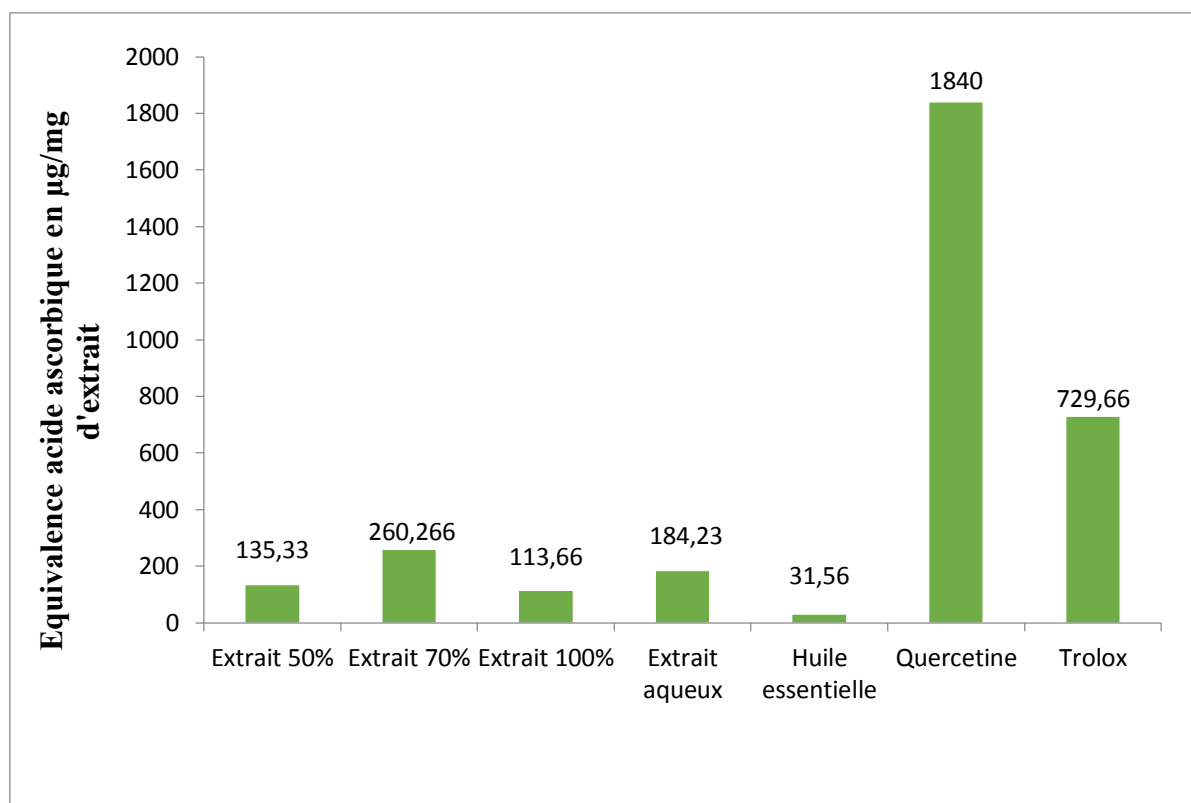


Figure 26. Résultats du pouvoir réducteur des parties aériennes de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* et les standards.

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique 70% possède le pouvoir réducteur le plus important 260.26 ± 10.28 µg EAA/mg d'extrait suivi par l'extrait aqueux avec un pouvoir réducteur 184.23 ± 8.07 µg EAA/mg d'extrait, puis l'extrait éthanolique 50% avec un pouvoir réducteur 135.33 ± 12.10 µg EAA/mg d'extrait, suivi par l'extrait éthanolique 100% avec un pouvoir réducteur 113.66 ± 4.81 µg EAA/mg d'extrait, le pouvoir réducteur le plus faible est celui de l'huile essentielle 31.56 ± 5.56 µg EAA/mg d'extrait.

Tandis que le standard quercétine, a le pouvoir réducteur le plus fort 1840 ± 16.61 µg EAA/mg d'extrait et supérieur à celle de standard trolox 729.66 ± 2.25 µg EAA/mg d'extrait. Le pouvoir réducteur de nos extraits reste inférieur par rapport aux standards utilisés.

D'après les résultats de Labiad *et al.*, (2017), qui ont travaillé sur la plante *Thymus satureioides*, l'extrait hydro-éthanolique a montré une plus grande valeur de pouvoir réducteur 233.292 µg EAA/mg d'extrait, ce résultat est inférieur au pouvoir réducteur que nous avons obtenu pour l'extrait éthanolique 70%. Une étude réalisée par Méndez-Tovar *et al.*, (2015) sur la plante *Thymus mastichina subsp. mastichina*, l'extrait méthanolique 50% a

donné un pouvoir réducteur 52 $\mu\text{g ET/mg}$ d'extrait, ce résultat est inférieur au pouvoir réducteur que nous avons obtenu pour l'extrait éthanolique 50%.

Une autre étude présentée par Ruiz-Navajas *et al.*, (2013) qui ont travaillé sur la plante *Thymus piperella*, l'huile essentielle a donné un pouvoir réducteur 10.09 $\mu\text{g ET/mg}$ d'extrait, ce résultat est inférieur par rapport à notre résultat pour le même extrait.

Il n'est pas aisé de comparer directement ces résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs pour les raisons suivantes : la teneur en antioxydant est fortement influencée par le type de solvant utilisé, la température et le nombre d'extractions, la sonication, etc. et aussi parce que parfois les résultats sont exprimés en équivalent acide gallique, équivalents trolox ou équivalents acide caféique, ce qui rend les résultats non directement comparables (Méndez-Tovar *et al.*, 2015).

Conclusion

Conclusion

Dans le but de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits (l'extrait éthanoliques 50%, 70% et 100%, extrait aqueux et huiles essentiels) de la plante *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus*.

Parmi les rendements des différents extraits éthanolique, celui de l'extrait éthanolique 70% est le plus élevé. La quantification des polyphénols totaux révèle une teneur plus élevée en polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique 70%. Pour les flavonoïdes et les flavonols l'extrait éthanolique 70% reste le plus riche. Au contraire pour les triterpènes, l'extrait éthanolique 100% est le plus riche en triterpènes.

L'étude de l'activité antioxydante a montré que nos extraits ont plus ou moins un puissant pouvoir antioxydant. Pour le DPPH, l'extrait aqueux possède l'activité anti-radicalaire contre le DPPH la plus importante. Alors que pour l'ABTS, l'extrait éthanolique 70% est le meilleur parmi nos extraits. Pour le TAC et le FRAP c'est toujours l'extrait éthanolique 70% qui possède l'activité antioxydante totale la plus importante. Les résultats de notre étude permettent de conclure que le meilleur solvant pour l'extraction et pour l'activité antioxydante est celui de l'éthanol 70%.

En perspectives, il serait intéressant d'élargir l'étude et d'approfondir les recherches par l'évaluation d'autre activité comme l'activité antimicrobienne, antidiabétique ; et la réalisation des tests *in vivo* pour étudier la bioaccessibilité des polyphénols, d'évaluer la cytotoxicité de la plante, la valorisation de l'extrait aqueux provient de déchets de production des huiles essentielles, et pourquoi pas de fabriquer un complément alimentaire à base de la plante *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus*.

Bibliographie

Bibliographie

- A. Hussein, R., & A. El-Anssary, A. (2019). Plants Secondary Metabolites : The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. In P. F. Builders (Éd.), *Herbal Medicine*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76139>
- Abramovič, H., Abram, V., Čuk, A., Čeh, B., Smole Možina, S., Vidmar, M., Pavlovič, M., & Poklar Ulrih, N. (2018). Antioxidative and antibacterial properties of organically grown thyme (*Thymus* sp.) and basil (*Ocimum basilicum* L.). *TURKISH JOURNAL OF AGRICULTURE AND FORESTRY*, 42(3), 185-194. <https://doi.org/10.3906/tar-1711-82>
- Agrawal, S. (2009). *Advances in medicinal plants*. Oxford Book Company.
- Aljabeili, H. S., Barakat, H., & Abdel-Rahman, H. A. (2018a). Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Thyme Essential Oil. *Food and Nutrition Sciences*, 09(05), 433-446. <https://doi.org/10.4236/fns.2018.95034>
- Amamra, S. (2018). Determination of Total Phenolics Contents, Antioxidant Capacity of *Thymus vulgaris* Extracts using Electrochemical and Spectrophotometric methods. *International Journal of Electrochemical Science*, 7882-7893. <https://doi.org/10.20964/2018.08.57>
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., Guedira, A., & Chaouch, A. (2011). Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 158(4), 513-523. <https://doi.org/10.1080/12538078.2011.10516292>
- Amiri, H. (2012). Essential Oils Composition and Antioxidant Properties of Three *Thymus* Species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2012/728065>
- Aydin, Sinem, & Caniklioğlu, Ayşegül. (2021). *Antimicrobial and antioxidant potentials, total phenolic contents of some herbal waters*. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.4501542>

- Balciunaitiene, A., Viskelis, P., Viskelis, J., Streimikyte, P., Liaudanskas, M., Bartkiene, E., Zavistanaviciute, P., Zokaityte, E., Starkute, V., Ruzauskas, M., & Lele, V. (2021). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of *Artemisia absinthium* L., *Humulus lupulus* L. and *Thymus vulgaris* L., Physico-Chemical Characterization, Antimicrobial and Antioxidant Activity. *Processes*, 9(8), 1304. <https://doi.org/10.3390/pr9081304>
- Bendif, H., Adouni, K., Miara, M. D., Baranauskienė, R., Kraujalis, P., Venskutonis, P. R., Nabavi, S. M., & Maggi, F. (2018). Essential oils (EOs), pressurized liquid extracts (PLE) and carbon dioxide supercritical fluid extracts (SFE-CO₂) from Algerian *Thymus munbyanus* as valuable sources of antioxidants to be used on an industrial level. *Food Chemistry*, 260, 289-298.
- Bendif, H., Peron, G., Miara, M. D., Sut, S., Dall'Acqua, S., Flamini, G., & Maggi, F. (2020). Total phytochemical analysis of *Thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* from Algeria by HS-SPME-GC-MS, NMR and HPLC-MSⁿ studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 186, 113330. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113330>
- Bendjabeur, S., Benchabane, O., Bensouici, C., Hazzit, M., Baaliouamer, A., & Bitam, A. (2018). Antioxidant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of *Thymus algeriensis* and *Teucrium polium* from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2278-2288. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9845-x>
- Bijoy M., Jayati S., Probir K S. (2008). Antioxidant activities of soybean as affected by bacillus- fermentation to kinema. *Food Research International*, 41(6): 586-593.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. . . B.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Science*, 161(5), 839-851. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3)

- BOUSSOUALIM, N. (2014). *Activités biologiques de plantes médicinales: Anchusa azurea Mill. et Globularia alypum L. Soutenue* (Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas).
- Bulut, M., Akpolat, H., Tunçtürk, Y., Alwazeer, D., & Türkhan, A. (2020). Determination of Optimum Ethanolic Extraction Conditions and Phenolic Profiles of Thyme, Mint, Uckun, Grape Seeds and Green Tea Waste Fiber. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6(3), 605-614. <https://doi.org/10.24180/ijaws.783503>
- Chang, C. L., Lin, C. S., & Lai, G. H. (2012). Phytochemical Characteristics, Free Radical Scavenging Activities, and Neuroprotection of Five Medicinal Plant Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2012/984295>
- Chaouche, M., DemiRtaş, İ., Koldaş, S., Tüfekçi, A. R., Gül, F., Özen, T., Wafa, N., Bouregghda, A., & Bora, N. (2021). Phytochemical Study and Antioxidant Activities of the Water-Soluble Aerial Parts and Isolated Compounds of *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus* (Desf.) Greuter & Burdet. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18(4), 430-437. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2020.44538>
- Chikhoun, A., Stouvenel, L., Iguer-Ouada, M., Hazzit, M., Schmitt, A., Lorès, P., Wolf, J. P., Aissat, K., Auger, J., Vaiman, D., & Touré, A. (2015). In-vitro effects of *Thymus munbyanus* essential oil and thymol on human sperm motility and function. *Reproductive BioMedicine Online*, 31(3), 411-420. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.06.011>
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissèdre, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82. <https://doi.org/10.1007/s10298-008-0293-3>
- D'Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P., & Carputo, D. (2018). The antioxidant properties of plant flavonoids: Their exploitation by molecular plant breeding. *Phytochemistry Reviews*, 17(3), 611-625. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9568-y>
- Deghima, A., Ansorena, D., Calvo, M. I., Astiasarán, I., & Bedjou, F. (2021). Nutritional constituents and effect of in vitro digestion on polyphenols and antioxidant activity of the large-leaved buttercup (*Ranunculus macrophyllus* Desf.). *Food Bioscience*, 40, 100904. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100904>

- Deghima, A., Righi, N., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., Gómez-Mejía, E., Madrid, Y., Baali, F., & Bedjou, F. (2020). Bioactive polyphenols from *Ranunculus macrophyllus* Desf. Roots : Quantification, identification and antioxidant activity. *South African Journal of Botany*, 132, 204-214. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.036>
- Delgado-Adámez, J., Garrido, M., Bote, M. E., Fuentes-Pérez, M. C., Espino, J., & Martín-Vertedor, D. (2017). Chemical composition and bioactivity of essential oils from flower and fruit of *Thymbra capitata* and *Thymus* species. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1857-1865. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2617-5>
- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant Flavonoids : Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 26(17), 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Dieng, M., Fall, A., Diatta, K., Diatta, W., & Bassene, E. (2015). Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart. (Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(2), 1067. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i2.41>
- Dieng, S. I. M., Fall, A. D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., Mbaye, A., Diatta, W., & Bassene, E. (2017). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2), 768. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i2.19>
- Diop, A., Karé, M., & Samb, I. (2023). *Extraction, caractérisation et évaluation de l'activité antioxydante de l'huile de Chrysopogon Nigritanus.*
- Divekar, P. A., Narayana, S., Divekar, B. A., Kumar, R., Gadratagi, B. G., Ray, A., Singh, A. K., Rani, V., Singh, V., Singh, A. K., Kumar, A., Singh, R. P., Meena, R. S., & Behera, T. K. (2022). Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2690. <https://doi.org/10.3390/ijms23052690>

- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>
- Elbouny, H., Ouahzizi, B., Bouhlali, E. D. T., Sellam, K., & Alem, C. (2022). Pharmacological, biological and phytochemical aspects of *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. : A review. *Plant Science Today*. <https://doi.org/10.14719/pst.1494>
- Elgamouz, S., Bouzekri, O., Bouymajane, A., Rhazi, F., Elidrissi, M., Amchrouk, A., & Choukrad, M. (2020). *The Study of Antioxidant and Antimicrobial activities of Moroccan Thymus vulgaris' Essential oil and its Physicochemical Characteristics in comparison with previous Studies*. 10.
- Elie, F. (2022). *Les phénols et les polyphénols*.
- El-Newary, S. A., Shaffie, N. M., & Omer, E. A. (2017). The protection of *Thymus vulgaris* leaves alcoholic extract against hepatotoxicity of alcohol in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(4), 361-371. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.023>
- Elsayed Azab, A., A Adwas, A., Ibrahim Elsayed, A. S., A Adwas, A., Ibrahim Elsayed, A. S., & Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1), 43-47. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>
- Fadili, K., Amalich, S., N'Dedianhoua, S. K., Bouachrine, M., Mahjoubi, M., Hilali, F. E., & Zair, T. (2015). *Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc : Rosmarinus Officinalis et Thymus Satureioides*. 17(1).
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Garcia-Herreros, C., Garcia-Iñiguez-de-Ciriano, M., Astiasarán, I., & Ansorena-Artieda, D. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of water extracts of *Borago officinalis* L: Influence of plant part and cooking procedures.

- Gedikoğlu, A., Sökmen, M., & Çivit, A. (2019). Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Science & Nutrition*, 7(5), 1704-1714. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1007>
- Habashy, N. H., Abu Serie, M. M., Attia, W. E., & Abdelgaleil, S. A. M. (2018). Chemical characterization, antioxidant and anti-inflammatory properties of Greek *Thymus vulgaris* extracts and their possible synergism with Egyptian *Chlorella vulgaris*. *Journal of Functional Foods*, 40, 317-328. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.022>
- Hassan, A., Saleem, M. H., Perveen, A., Mobeen, M., Ali, S., Shakoor, A., Ali, Q., Chattha, M. S., El-Sheikh, M. A., & Ali, S. (2022). Oxidative stress alleviation as indicated by enzymatic and non-enzymatic antioxidants and osmoregulators in barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt (NaCl) stress by ascorbic acid (ASA). *Pakistan Journal of Botany*, 54(1). [https://doi.org/10.30848/PJB2022-1\(42\)](https://doi.org/10.30848/PJB2022-1(42))
- Hossain, M. A., AL-Raqmi, K. A. S., AL-Mijizy, Z. H., Weli, A. M., & Al-Riyami, Q. (2013). Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(9), 705-710. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60142-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60142-2)
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Jabri-Karoui, I., Bettaieb, I., Msaada, K., Hammami, M., & Marzouk, B. (2012). Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*. *Journal of Functional Foods*, 4(3), 661-669. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.04.007>
- JC Furtado, N. A., Pirson, L., Edelberg, H., M. Miranda, L., Loira-Pastoriza, C., Preat, V., ... & André, C. M. (2017). Pentacyclic triterpene bioavailability: An overview of in vitro and in vivo studies. *Molecules*, 22(3), 400.

- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Godevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369-380. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>
- Kabouche, A., Ghannadi, A., & Kabouche, Z. (2009). *Thymus ciliatus* – The Highest Thymol Containing Essential Oil of the Genus. *Natural Product Communications*, 4(9), 1934578X0900400. <https://doi.org/10.1177/1934578X0900400918>
- Kindl, M., Blažeković, B., Bucar, F., & Vladimir-Knežević, S. (2015). Antioxidant and Anticholinesterase Potential of Six *Thymus* Species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2015/403950>
- Kowalczyk, A. (2022). The Role of the Natural Antioxidant Mechanism in Sperm Cells. *Reproductive Sciences*, 29(5), 1387-1394. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00795-w>
- Kumaran, A., & Joel Karunakaran, R. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Science and Technology*, 40(2), 344-352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.011>
- Labiad, M. H., Harhar, H., Ghanimi, A., & Tabyaoui, M. (2017). *Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Moroccan Thymus satureioides Extracts*.
- Landrier, J.-F. (2011). Vitamine E et physiologie du tissu adipeux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 18(2), 83-87. <https://doi.org/10.1051/ocl.2011.0370>
- Maleš, I., Dragović-Uzelac, V., Jerković, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Repajić, M., Garofulić, I. E., & Dobrinčić, A. (2022). Non-Volatile and Volatile Bioactives of *Salvia officinalis* L., *Thymus serpyllum* L. and *Laurus nobilis* L. Extracts with Potential Use in the Development of Functional Beverages. *Antioxidants*, 11(6), 1140. <https://doi.org/10.3390/antiox11061140>

- Martínez-Cruz, O., & Paredes-López, O. (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1346, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.007>
- Mazandarani, M., & Ghafourian, M. (2017). *Influence of extraction methods on total phenolic, flavonoids and antioxidant activity of Thymus kotchyanus L. extract in Semnan Province, Iran.*
- McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., Coulman, B. E., Wang, Y., & Cheng, K.-J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(3), 469-485. <https://doi.org/10.4141/P99-050>
- Mehmood, T., Shafique, S., Tabassam, Q., Afzal, M., & Ahmad, S. (2015). Variation in antioxidant attributes, individual phenolic acids composition and biological activities of *Thymus vulgaris*: effects of extraction solvents. *International Journal of Biosciences*, 6(11), 73-86.
- Méndez-Tovar, I., Sponza, S., Asensio-S-Manzanera, M. C., & Novak, J. (2015). Contribution of the main polyphenols of *Thymus mastichina* subsp. *Mastichina* to its antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*, 66, 291-298. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.029>
- Mendonça, J. da S., Guimarães, R. de C. A., Zorretto-Pinheiro, V. A., Fernandes, C. D. P., Marcelino, G., Bogo, D., Freitas, K. de C., Hiane, P. A., de Pádua Melo, E. S., Vilela, M. L. B., & Nascimento, V. A. do. (2022). Natural Antioxidant Evaluation : A Review of Detection Methods. *Molecules*, 27(11), 3563. <https://doi.org/10.3390/molecules27113563>
- Miara, M. D., Hammou, M. A., & Aoul, S. H. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11(4), 206-218. <https://doi.org/10.1007/s10298-013-0789-3>
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>

- Miron, T. L., Plaza, M., Bahrim, G., Ibáñez, E., & Herrero, M. (2011). Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. *Journal of Chromatography A*, 1218(30), 4918-4927.
- Moualek, I. (2018). *Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'Arbutus unedo de la région de Tizi-Ouzou* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Moukhles, A., Ibn Mansour, A., Ellaghdach, A., & Abrini, J. (2018). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the pure essential oils and essential oils extracted from their corresponding hydrolats from different wild varieties of Moroccan thyme. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9(1), 235-244. <https://doi.org/10.26872/jmes.2018.9.1.27>
- Nazer, D. W., Al-Sa'ed, R. M., & Siebel, M. A. (2006). Reducing the environmental impact of the unhairing–liming process in the leather tanning industry. *Journal of Cleaner Production*, 14(1), 65-74. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2005.04.002>
- Nezhadali, A., Nabavi, M., Rajabian, M., Akbarpour, M., Pourali, P., & Amini, F. (2014). Chemical variation of leaf essential oil at different stages of plant growth and in vitro antibacterial activity of *Thymus vulgaris* Lamiaceae, from Iran. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2), 87-92. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2014.05.001>
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44, 307–315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Ozen, T., Demirtas, I., & Aksit, H. (2011). Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of *Thymus praecox* subsp. *Skorpilii* var. *Skorpilii*. *Food Chemistry*, 124(1), 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.103>
- Öztürk M., Aydoğmuş-Öztürk F., Emindura M. and Topçu G. (2007). Antioxidant activity of stem and root of extract of rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry*, 103 (2): 623-630.
- Öztürk, N. (2015). Phenolic composition and antioxidant activity of the different extracts from *Thymus longicaulis* C Presl. Subsp. *Longicaulis* var. *Longicaulis* and T.

longicaulis C. Presl. Subsp. Longicaulis var. Subisophyllus growing in Turkey. *Pak. J. Pharm. Sci.*

- Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., & Stefan, G. (2017). Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms: Polyphenols extending meat shelf-life.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(6), 1243-1268. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12298>
- Pasquier, C. (1995). Stress oxydatif et inflammation. *Revue française des laboratoires*, 1995(276), 87-92.
- Petrović, S., Ušjak, L., Milenković, M., Arsenijević, J., Drobac, M., Drndarević, A., & Niketić, M. (2017). Thymus dacicus as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. *Journal of Functional Foods*, 28, 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.11.007>
- Prabhakaran, D., & Shwetha, V. K. (2013). INVESTIGATION ON THE IN VITRO ANTIOXIDANT, ANTIMUTAGENIC AND CYTOTOXIC POTENTIAL OF THYMUS VULGARIS L. HYDRO-ALCOHOLIC EXTRACT. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(8).
- Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II EDITIONS DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE 15, quai Anatole-France – Paris 7
- Rahaman, Md. M., Hossain, R., Herrera-Bravo, J., Islam, M. T., Atolani, O., Adeyemi, O. S., Owolodun, O. A., Kambizi, L., Daştan, S. D., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update. *Food Science & Nutrition*, fsn3.3217. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3217>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Ribéreau-Gayon, P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod.

- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J. A., & Fernández-López, J. (2013). In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30(2), 386-392. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.052>
- Rychter, A. M., Hryhorowicz, S., Słomski, R., Dobrowolska, A., & Krela-Kaźmierczak, I. (2022). Antioxidant effects of vitamin E and risk of cardiovascular disease in women with obesity – A narrative review. *Clinical Nutrition*, 41(7), 1557-1565. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.04.032>
- Salehi, B., Abu-Darwish, M. S., Tarawneh, A. H., Cabral, C., Gadetskaya, A. V., Salgueiro, L., Hosseinabadi, T., Rajabi, S., Chanda, W., Sharifi-Rad, M., Mulaudzi, R. B., Ayatollahi, S. A., Kobarfard, F., Arserim-Uçar, D. K., Sharifi-Rad, J., Ata, A., Baghalpour, N., & Contreras, M. del M. (2019). *Thymus* spp. Plants—Food applications and phytopharmacy properties. *Trends in Food Science & Technology*, 85, 287-306. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.020>
- Salhi, A., Bouyanzer, A., Mounsi, I. E., Bendaha, H., Hamdani, I., Ouariachi, E. E., Chahboun, N., Hammouti, B., Desjobert, J. M., & Costa, J. (2016). *Chemical composition, antioxidant and anticorrosive activities of Thymus Algeriensis*..
- Salhi, A., Hamdani, I., Bouyanzer, A., Chahboun, N., Warad, I., Hammouti, B., & Bentiss, F. (2018). *Phytochemical Analysis, Antioxidant and Anticorrosive Activities of Thymus Algeriensis Extracts*. 10(12).
- Samreen, S., Vijay R. Chidrawar, & Mohd. Imran. (2019). IMMUNOMODULATING, ANTI-BACTERIAL AND ANTI-CANCER POTENTIAL OF ZA'ATAR (THYMUS VULGARIS) AND ITS COMBINATION WITH ESSENTIAL OIL (OLIVE AND BALSAM OIL). *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*, 10(8).
- Sargsyan, L., Vill, V., & Hippe, T. (2020). Investigations of vegetable tannins as hair dyes and their interactions with pre-bleached hair fibres. *International Journal of Cosmetic Science*, 42(4), 320-327. <https://doi.org/10.1111/ics.12624>
- Song, J.-H., Yang, S., Choi, G., & Park, I. (2023). Characterization of the complete chloroplast genome of the important herbal medicinal plant, *Thymus quinquecostatus*

(Lamiaceae). *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 16(1), 140-143.
<https://doi.org/10.1016/j.japb.2022.12.010>

- Souadia, A. (2022). Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Essential Oils of Algeria. *Natural Product Communications*, 17(2), 1934578X2210803. <https://doi.org/10.1177/1934578X221080337>
- Tangara, D., Diop, A., Tirera, H., Yaranga, B., & Diop, M. (2022). *Borreria verticillata* plante médicinale sénégalaise : Étude de l'activité antioxydante d'extraits méthanoliques, chloroformiques, aqueux et acétates de la plante entière (racine, tige, feuille, fleurs). 171.
- Togola, I., Konaré, M. A., Diakité, M., Diarra, N., Tounkara, F., Sanogo, R., & Dembélé, D. (2019). *STAGES OF DEVELOPMENT OF Datura innoxia Mill., A PLANT USED IN*.
- Trabsa, H., Baghiani, A., Boussoualim, N., Krache, I., & Arrar, L. (2020). The In vivo and in vitro antioxidant and anti-hemolytic effect of Algerian *Centaurea calcitrapa* L. extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(5), 202-207.
<https://doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4402>
- Twaij, B. M., & Hasan, Md. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources : Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4-14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>
- Yoshikawa, T., & Naito, Y. (2002). What is oxidative stress?. *Japan medical association journal*, 45(7), 271-276.

ملخص

هذا العمل هو تقدير المحتوى الفينولي ودراسة النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات والزيت الأساسي لهذا النبات. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ثراء *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* في البوليفينول، مع 70% من مستخلص الإيثانول حيث أن محتوى البوليفينول 3.34 ± 133.49 $\mu\text{g EAG/mg}$ للمستخلص، ومحتوى الفلافونول 280.16 ± 293.767 $\mu\text{g ER/mg}$. أظهرت اختبارات النشاط المضاد للأكسدة أن جميع مستخلصات النبات المدروس تملك خصائص مختلفة لمضادات الأكسدة. يحتوي المستخلص الإيثانولي 70% من النبات على أهم نشاط إجمالي مضاد للأكسدة مقارنة بالمستخلصات الأخرى. مع أكبر قدر من الطاقة المخفضة 10.28 ± 260.26 $\mu\text{g EAA/mg}$. الزيوت الأساسية من *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* لديها نشاط إجمالي جيد مضاد للأكسدة 66.884 ± 3.27 g EAA/mg TAC مستخلص. نستنتج أن *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* يتمتع بنشاط جيد مضاد للأكسدة، وأفضل مذيب للاستخراج ونشاط مضاد للأكسدة هو الإيثانول 70%.

الكلمات الرئيسية: *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus*، flavonols، polyphenols، مضادات الأكسدة، الزيوت الأساسية.

Résumé

Thymus munbyanus subsp. *Ciliatus* est une plante médicinale aromatique endémique à l'Afrique du nord. Le but de ce travail est l'estimation du contenu phénolique et l'étude de l'activité antioxydante de différents extraits et l'huile essentielle de cette plante. Les résultats obtenus ont montré la richesse de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* en polyphénols, avec l'extrait éthanolique 70% montrant une teneur en polyphénols de 133.49 ± 3.34 $\mu\text{g EAG /mg}$ d'extrait, et une teneur de flavonols de 280.16 ± 293.767 $\mu\text{g ER / mg}$ d'extrait. Les tests de l'activité antioxydante ont montré que tous les extraits de la plante étudiée ont présenté différentes propriétés antioxydantes. L'extrait éthanolique 70% de la plante possède l'activité antioxydante totale la plus importante par rapport aux autres extraits, avec un pouvoir réducteur le plus important (260.26 ± 10.28 $\mu\text{g EAA/mg}$ d'extrait). Les huiles essentielles de *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* possède une bonne activité antioxydante total de TAC = 66.884 ± 3.275 $\mu\text{g EAA / mg}$ d'extrait. Nous concluons que la plante *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* possède une bonne activité antioxydante, et le meilleur solvant pour l'extraction et pour l'activité antioxydante est celui de l'éthanol 70%.

Mots clés : *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus*, polyphénols, flavonols, antioxydants, huiles essentielles.

Abstract

Thymus munbyanus subsp. *Ciliatus* is an aromatic medicinal plant endemic to North Africa. The purpose of this work is the estimation of the phenolic content and the study of the antioxidant activity of different extracts and the essential oil of this plant. The results obtained showed the richness of *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* in polyphenols, with the 70% ethanolic extract showing a polyphenol content of 133.49 ± 3.34 $\mu\text{g EAG/mg}$ extract, and a flavonol content of 280.16 ± 293.767 $\mu\text{g RE/mg}$ extract. Antioxidant activity tests showed that all the extracts of the studied plant exhibited different antioxidant properties. The 70% ethanolic extract of the plant has the highest total antioxidant activity compared to other extracts. With the greatest reducing power (260.26 ± 10.28 $\mu\text{g EAA/mg}$ of extract). The essential oils of *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* has a good total antioxidant activity of TAC = 66.884 ± 3.275 $\mu\text{g EAA / mg}$ of extract. We conclude that *T. munbyanus* subsp. *Ciliatus* has good antioxidant activity, and the best solvent for extraction and antioxidant activity is 70% ethanol.

Keywords : *Thymus munbyanus* subsp. *Ciliatus*, polyphenols, flavonols, antioxidants, essential oils.