



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

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Khouloud LABED et Imene GHORBAL

Thème **Activité antioxydante de l'extrait hydro- methanolique de *Thymus algeriensis* et interaction avec les enzymes digestives**

Jury :

M.	Mouhamed Titaouine	MCA	Université de Biskra	Président
Mme.	Asma Meddour	MAA	Université de Biskra	Examineur
M.	Amirouche Dghima	MAA	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2019-2020

Remerciements

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

*Nous voudrions témoigner de nos remerciements et nos gratitudees à nous promoteur **Mr DEGHIWA AMIROUCHE**, pour la confiance qu'il nous a accordée, son assistance, sa disponibilité, sa compréhension et ses conseils qui nous ont beaucoup aidé à réaliser ce travail*

*Nous voudrions ensuite exprimer toutes gratitudees et reconnaissances à notre enseignantes **Mme. TRABSA HAYAT***

Nous tenons à remercier les membres de jury, chacun de son nom, d'avoir accepté de juger nôtre travail

*Nous tenons à remercier tous **les enseignants** du Département des sciences de la nature et de la vie qui nous ont suivis durant notre formation*

*Sans oublier de remercier chaleureusement **SALIM HAIF ET KHAOUJA DEROUZ** et tous **les membres du laboratoire** de la faculté, pour leur aide et leur soutien.*

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail ;

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

A ma très chère mère ; Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père ; tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A ma très chère sœur Samar ; Je n'espère que devenir un exemple que tu pourras dépasser. Je te remercie pour ton amour, ta tendresse et ton soutien ton encouragement.

A mes chers frères Mohamed akram et Abdraouf ; Pour votre amour, votre compréhension qui m'a apporté le grand aide pour la réalisation de mon projet de fin d'étude, je ne pourrais jamais vous remercier assez.

A ma chère sœur Khouloud ainsi à toute sa famille ; En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

A mes grands-mères ; grands pères

A mes tantes ; surtout Naima, Djahida, Zineb, Karima, Fatma Zohra, Rachida, Akila

A mes oncles ; surtout Elhachemi (ALLAH yarhmo), Rida, Fodil, Rachid, Mohamed, Ali, AbdAlrahmen

A mes cousins et cousines ; surtout Imad qui m'a aidé et supportés dans les moments difficiles,

Sid ali, Mohamed, Abdallah, Hamza, Abdraouf, Aymen, Abd el hak, Khadidja, Omaima, Asma, Hadjer, Amina, Wissam, Sara, Chourouk, Zineb, Amira, pour leur aide et encouragements.

A tous mes amis (es) ;

Nour, Khouloud, Mounira, Sara, Abir, Aicha, Hassna, manal, Nardjiss, Djihane, nassima

Dédicace

Il est naturel que ma pensée la plus forte aille et avec un très grand honneur que je dédie ce travail à ma mère ZINEB qui a sacrifiés pour que je grandisse avec un savoir faire et qui a fait de moi ce que je suis aujourd'hui que DIEUX la protège et les accorde une longue vie pleine

Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de mon père EL

HACHEMI disparu trop tôt.

J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde ! (ALLAH yarhmo)

Je dédie aussi ce modeste travail

A ma Grand-Mère YAMINA (ALLAH yarhamha)

A mes chers frères MOHAMMED, ABDALLAH et HAMZA

A mes chères sœurs MOUNA, ASSMA, AMINA et leurs maries SOUFIANE, SAMIR ET KHALIL et leurs enfants surtout mon adorable (AYMEN et FOUFO) et surtout à mes Chères sœurs HADJER et OMAIMA nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect Merci énormément

*Je dédie aussi ce travail à A ma chère sœur en dieu et ma fidèle amie IMENE pour ton amitié et ton amour je te souhaite une bonne continuation et sans oublier sa famille surtout TATA HAFIDAH TANTO DJAMAEL, AKRAM et à mes adorables SAMOURA et RAOOF
Merci du fond du cœur*

A Tata MALIKA, NAIIMA et TATA DJAHIDA et leurs famille nulle dédicace puisse exprimer mes sincère sentiments et mes respects, Merci du fond du cœur Aussi à mes cousins DAYDO, AMIRA, KHADIDJA, SAIIDA et RABIAA

Enfin je dédie ce mémoire à mes amies KHOULOUD et son famille surtout son père, merci tout au long de ma vie

ELKAIMA, NASSIMA, MANEL, MOUNIRA, SARA, ABIR, DJIHANE, HASSNA, NARDJISS

KHOULOUD

Table des matières

Liste des Tableaux	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

PREMIÈRE PARTIE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralités

1.1. Stress oxydant	3
1.1.1. Notion de stress oxydant.....	3
1.1.2. Maladies liées aux stress oxydant.....	3
1.2. Antioxydants	3
1.3. Composés phénoliques.....	3
1.3.1. Classification	4
1.3.1.2. Flavonoïdes	4
1.3.2. Polyphénols et santé humaine.....	4
1.4. Biodisponibilité et bioaccessibilité des polyphénols.....	5
1.4.1. Biodisponibilité des polyphénols.....	5
1.4.2. Bioaccessibilité des polyphénols	5
1.4.2.1. Méthodes d'études de la bioaccessibilité et la biodisponibilité	5
1.4.3. Généralité sur la biodisponibilité des composés phénoliques	6
1.5. Les lamiacées	7
1.6. Genre <i>Thymus</i>	7
1.7. <i>Thymus algeriensis</i>	7
1.7.1. Position systématique de <i>Thymus algeriensis</i>	8
1.7.2. Utilisation traditionnelle et activités pharmacologiques	8

DEUXIÈME PARTIE PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2.1. Matériel	9
---------------------	---

2.1.1. Matériel végétal	9
2.1.1.1. Récolte de plante étudiée	9
2.2. Méthodes	10
2.2.1. Extraction.....	10
2.2.1.1. Préparation des extraits	10
2.2.2. Analyses chromatographiques.....	14
2.2.3. Dosage des composés phénoliques.....	14
2.2.3.1. Polyphénols totaux	14
2.2.3.2. Flavonoïdes Totaux.....	15
2.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante	15
2.2.4.1. Inhibition de radicale DPPH•.....	15
2.2.4.2. Blanchiment du β -carotène	16
2.2.4.3. Pouvoir réducteur des ions métalliques	17
2.2.5. Digestion <i>in vitro</i>	18
2.2.5.1. L'étape orale	18
2.2.5.2. L'étape gastrique.....	18
2.2.5.3. L'étape intestinale.....	18

Chapitre 3 : Résultats et discussions

3.1. Rendement d'extraction	21
3.2. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes.....	23
3.3. Analyses des activités antioxydantes <i>in vitro</i>	25
3.3.1. Etude de l'activité anti-radicalaire.....	26
3.3.2. Pouvoir réducteur (FRAP) et blanchiment du β -carotène	27
3.4. Résultats d'analyse chromatographique des extraits (HPLC).....	28
3.5. Résultats de digestion <i>in vitro</i>	30
3.5.1. Evolution de l'activité antioxydante de l'acide rosmarinique (dosage pendant la digestion gastro-intestinale <i>in vitro</i>).	33
Conclusion	35
Références bibliographiques.....	36
Annexes	
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Conditions et zones géographique de récolte de <i>Thymus algeriensis</i>	9
Tableau 2. Rendements des différents extraits du <i>Thymus algeriensis</i>	21
Tableau 3. Résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux des différents extraits de <i>T.algeriensis</i>	23
Tableau 4. Résultat de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> de l'extrait de <i>Thymus algeriensis</i>	25
Tableau 5. Evolution de l'acide rosmarinique déterminée par HPLC au cours de digestion gastro-intestinale <i>in vitro</i>	31
Tableau 6. Evolution de l'activité antioxydante de l'acide rosmarinique pendant la digestion gastro-intestinale <i>in vitro</i>	33

Liste des Figures

Figure 1. Photographie de la plante <i>Thymus algeriensis</i>	8
Figure 2. Protocole d'extraction des fleurs de <i>Thymus algeriensis</i>	11
Figure 3. Protocole d'extraction des Feuilles de <i>Thymus algeriensis</i>	12
Figure 4. Etape de préparation d'une infusion aqueuse.	13
Figure 5. Etape de préparation d'une décoction aqueuse.	13
Figure 6. Procédure de digestion gastro intestinale in vitro appliquées aux normes de composés phénoliques..	20
Figure 7. Profil chromatographique de l'extrait <i>T. algeriensis</i> à 280 nm.....	28
Figure 8. Composés phénoliques identifiés dans les extraits de <i>Thymus algeriensis</i> par UHPLC-DAD-ESI-MS ⁿ	29

Liste des abréviations

AAT : Activité antioxydant totale.

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

AC : Absorbance de control.

AT : Absorbance de test.

BHA : hydroxyanisolebutylé.

BHT: butylhydroxy toluène.

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

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%

DAD : Diode-arraydetection.

EAA : Equivalent acide ascorbique.

EAG : Equivalent en acide gallique.

EQ : Equivalent en quercétine

ER : Equivalent en rutine.

EC : Equivalent en catéchine.

EC₅₀ : Concentration efficace médiane.

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique.

ESI-MS : Electrosprayionization mass spectrometric.

FI : Fraction intestinal

FR : Fraction résiduel

FRAP : Pouvoir réducteur de Fer

FS : Fraction soluble

PH : Potentiel hydrogène

UV-VIS : Ultra Violet-Visible

TPTZ : 2, 4, 6-tri (2-pyridyl)-1, 2, 5-triazine

INTRODUCTION

Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (Amarti *et al.*, 2011).

Actuellement, selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (Eddouks *et al.*, 2007). Un intérêt croissant dans l'industrie et dans la recherche scientifique pour les épices et les herbes aromatiques en raison de leur forte propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, qui dépassent de nombreux antioxydants naturels et synthétiques actuellement utilisés (Suhaj, 2006). L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en question en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

La principale raison pour cet intérêt est la reconnaissance des propriétés antioxydantes des polyphénols, leur grande abondance dans notre alimentation, et leur rôle dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydant, telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Manach *et al.*, 2004). Malgré leur distribution, les effets sur la santé des polyphénols alimentaires dépendent de la façon dont ils sont extraits des aliments et sur leur absorption intestinale, leur métabolisme et leur action biologique sur les tissus cible. La connaissance de la biodisponibilité et du métabolisme des différents polyphénols est nécessaire pour évaluer leur activité biologique dans les tissus cibles (Barros et Junior, 2019).

La plante *Thymus algeriensis* fait partie des plantes, qui sont riches en polyphénols, Cette herbe est une plante herbacée annuelle parfumée (Dob *et al.*, 2006).

Notre étude vise à estimer le contenu des parties aériennes en polyphénols totaux, en flavonoïdes totaux, l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* de cette

plante et l'étude de la bioaccessibilité des polyphénols. Pour cela nous avons divisé notre travail en deux parties

La première partie consiste en une étude bibliographique qui évoquera les notions de stress oxydant, des généralités sur les polyphénols, et une présentation botanique et phytochimique de la plante *Thymus algeriensis*.

La deuxième partie de notre mémoire a été consacrée aux résultats et discussions de l'étude phytochimique de la plante, ainsi que les composés identifiés par analyse chromatographique (HPLC), l'étude de l'activité antioxydante et la bioaccessibilité. Nous terminerons par une conclusion générale.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités

1.1. Stress oxydant

1.1.1. Notion de stress oxydant

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une surproduction, endogène ou exogène, de radicaux libres qui dépasse leurs capacités antioxydantes (Favier, 2006). Ces derniers sont des espèces chimiques (molécules, atomes ou ions) dont la couche périphérique contient un électron non apparié (électron dit célibataire) qui les rend très instables (Tahari *et al.*, 2013).

1.1.2. Maladies liées aux stress oxydant

La plupart des maladies causées par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement réduit les défenses cellulaires antioxydantes et augmente la reproduction mitochondriale des radicaux libres. Le stress oxydant est la principale cause de nombreuses maladies. C'est la principale cause des maladies multifactorielles (comme le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires) (Philippe Bidie *et al.*, 2011).

1.2. Antioxydants

Les antioxydants constituent une famille de substances susceptibles de neutraliser les radicaux libres et prévenir ainsi la survenue des maladies associées au stress oxydant (Sarr *et al.*, 2015). Les composés phénoliques naturels dont les acides phénoliques, les polyphénols et leurs formes polymérisées (tanins, lignine) sont des antioxydants efficaces d'origine végétale (Olejnik *et al.*, 2020).

1.3. Composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules (Hennebelle *et al.*, 2004). Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales. Ce sont des phyto-micronutriments et généralement des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge) (Edea, 2007).

1.3.1. Classification

Basé sur leurs structures chimiques, ils sont divisés en deux principaux groupes : non flavonoïdes et flavonoïdes (Karaš *et al.*, 2017).

1.3.1.1. Non flavonoïdes

a) Acides phénoliques

Le terme « acides phénoliques » décrit généralement les composés phénoliques ayant un groupe acide carboxylique (Kumar et Goel, 2019). Deux classes d'acides phénoliques peuvent être distinguées : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Manach *et al.*, 2004).

b) Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques (Chung *et al.*, 1998). Ils se caractérisent par leur faculté à se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes pour former des précipités (Safer, 2018). Selon la nature des assemblages moléculaires, les tannins sont classés en 2 groupes : les tannins hydrolysables constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou un de ces dérivés et les tannins condensés résultant de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanesol-3, flavane ol-4, flavane diol -3,4) (Sereme *et al.*, 2008).

1.3.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une catégorie majeure de polyphénols alimentaires dont la structure commune est constituée de deux cycles aromatiques liés par trois carbones formant un hétérocycle oxygéné (Morand, 2013). En fonction du degré d'oxydation de l'hétérocycle oxygène les flavonoïdes sont eux-mêmes divisés en 6 sous-classes : Flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, anthocyanidines et flavanols (D'Archivio *et al.*, 2007).

1.3.2. Polyphénols et santé humaine

Il est prouvé que les composés phénoliques offrent des possibilités chimio préventives intéressantes contre certains types de cancer, en particulier ceux de la région gastro-intestinale. Les composés phénoliques ont également plusieurs autres activités biologiques différentes, y compris comme antioxydants, agents

antimutagènes, agents anticancéreux, agents antiprolifératifs et des anti-œstrogènes (Fadel *et al.*, 2011).

1.4. Biodisponibilité et bioaccessibilité des polyphénols

1.4.1. Biodisponibilité des polyphénols

Le terme « biodisponibilité » a été utilisé à l'origine en pharmacologie pour définir le concept de « taux et la mesure dans laquelle un médicament atteint son site d'action » (D'Archivio *et al.*, 2010). Pour être biodisponible, un phyto-micronutriment doit donc être libéré de la matrice alimentaire dans laquelle il a été consommé, absorbé par la cellule intestinale, puis transporté jusqu'à son tissu cible (Borel, 2014). On peut donc distinguer quatre étapes clé du devenir d'un composé alimentaire au sein de l'organisme humain (biodisponibilité) : la bioaccessibilité au niveau du tube digestif, l'absorption intestinale, la métabolisation et l'effet final sur la santé (Fardet, 2013).

1.4.2. Bioaccessibilité des polyphénols

La bioaccessibilité est définie comme la fraction des polyphénols qui est libéré de la matrice alimentaire pendant le processus de digestion, puis devient accessible pour l'absorption intestinale (Ovando-Martinez *et al.*, 2018). Elle concerne seulement les polyphénols libérés de la matrice alimentaire par l'action des enzymes digestives (intestin grêle) et de la microflore bactérienne (gros intestin), ils sont bioaccessibles dans l'intestin et donc potentiellement biodisponibles (Saura-Calixto *et al.*, 2007).

1.4.2.1. Méthodes d'études de la bioaccessibilité et la biodisponibilité

La bioaccessibilité et la biodisponibilité des nutriments sont limités par les caractéristiques physiques de la matrice alimentaire, qui influence l'efficacité du processus de digestion physique, chimique et enzymatique. Un résumé des différents modèles pour étudier la bioaccessibilité et biodisponibilité des composés bioactifs, y compris les méthodologies *in vitro*, *ex vivo*, *in situ* et *in vivo* (Santos *et al.*, 2019).

Un modèle gastro-intestinal *in vitro* comprend un traitement enzymatique digestif pour isoler les composés alimentaires indigestes et la fermentation *in vitro* du colon. Ce modèle est utilisé pour estimer la bioaccessibilité des polyphénols alimentaires (Saura-Calixto *et al.*, 2007).

a) Modèle de digestion *in-vitro* statique

Les modèles de digestion statiques consistent à recréer dans une série de réacteurs les conditions auxquelles l'aliment sera soumis au cours de son passage dans le tractus digestif. Ce sont des modèles simples, largement utilisés qui permettent de prédire le comportement de l'aliment au cours de la digestion (Ménard et Dupont, 2014). Les modèles statiques sont les systèmes digestifs les plus courants dans lesquels la phase gastrique consiste en une hydrolyse de la pepsine dans des aliments homogénéisés à pH (1–2) et à température fixe (37°C) pendant une période définie (1–3h). Par la suite, la phase intestinale peut survenir dans le même bioréacteur avec addition d'enzymes pancréatiques avec ou sans bile (pH 6–7). Les modèles statiques ne reproduisent pas les processus dynamiques qui se produisent pendant la digestion humaine, tels que changements de pH et de sécrétions ou vidange gastrique (Santos *et al.*, 2019).

1.4.3. Généralité sur la biodisponibilité des composés phénoliques

Les polyphénols sont classés comme flavonoïdes et non flavonoïdes et se trouvent dans deux formats structurels : attachés aux sucres, qui augmentent leur solubilité, appelés glycosides, ou sous forme libre non-attaché connu sous le nom d'aglycones. Généralement, les aglycones peuvent être absorbés plus facilement dans l'intestin grêle ; cependant la plupart des polyphénols sont présents dans les aliments sous forme d'esters, de glycosides ou de polymères qui ne peuvent pas être absorbés sous forme native. Au cours de l'absorption, les polyphénols sont conjugués dans l'intestin grêle et plus tard dans le foie. Ce processus comprend principalement la méthylation, la sulfatation et la glucuronidation. Les polyphénols circulants sont des dérivés conjugués qui sont largement liés à l'albumine. Les polyphénols sont capables de pénétrer les tissus, en particulier ceux dans lesquels ils sont métabolisés, mais leur capacité s'accumuler dans des tissus cibles spécifiques doit être enquêtée. Les polyphénols et leurs dérivés sont éliminés principalement dans l'urine et la bile. Les polyphénols sont sécrétés par les voies biliaires dans le duodénum, où ils sont soumis à l'action d'enzymes bactériennes, en particulier la glucuronidase, dans la partie distale de l'intestin, après quoi ils peuvent être réabsorbés (Manach *et al.*, 2004).

1.5. Les lamiacées

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, comprend environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentre dans le bassin méditerranéen tel que le *Thym*, la lavande et le romarin. L'ancien nom des Lamiacées : Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles (Bouhaddouda, 2016). Ce sont des plantes odorantes et herbacées à tige quadrangulaire pouvant devenir des arbrisseaux ; leurs feuilles opposées par 2, leurs fleurs bisexuées, irrégulières, à calice tubuleux ou en cloche persistant, à corolle à tube très développé et leur fruit sec se séparant en 4 articles contenant chacun 1 graine (Hilan *et al.*, 2006).

1.6. Genre *Thymus*

Le genre *Thymus* est connu pour avoir des propriétés médicinales qui le rend parmi les genres les plus intéressants du point de vue de l'activité biologique (Khadir *et al.*, 2013).

Le genre *Thymus* appartenant à la famille des Lamiaceae comprend environ 350 espèces, principalement en Europe, en Asie occidentale et dans les régions méditerranéennes (Dob *et al.*, 2006). En Algérie, 12 espèces de *Thymus* colonisent le territoire du pays. Parmi elles, certaines sont endémiques de l'Algérie telles que *Thymus pallescens*, *Thymus dreatensis* Batt., *Thymus guyonii* de Noé et *Thymus lanceolatus* Desf., d'autres sont endémiques du Nord-Africain comme *Thymus ciliatus* Desf., *Thymus fontanesii* Boiss. Et Reut., *Thymus numidicus* Poiret., *Thymus munbyanus* Boiss. Et Reut. Et *Thymus algeriensis* Boiss et Reut (Khadir *et al.*, 2013).

1.7. *Thymus algeriensis*

Thymus algeriensis Boiss et Reut connue sous le nom de « zhitra », est un arbuste aromatique aux fleurs rose violacé, largement répandu en Afrique du Nord. Cette espèce est capable de survivre dans des conditions climatiques extrêmes, en particulier caractérisé par des températures élevées et une eau limitée. Ces plantes sont largement cultivées dans la région l'Ouest du Méditerranéenne, qui comprend l'Algérie (Righi *et al.*, 2020). Elles se caractérisent par une odeur modérée et parfois une saveur balsamique et épicée très prononcée (Khled khoudja *et al.*, 2014).



Figure 1. Photographie de la plante *Thymus algeriensis* (Achi, 2017).

1.7.1. Position systématique de *Thymus algeriensis*

D'après Touhami (2017), *Thymus algeriensis* occupe dans la position suivante :

Règne.....Plantae
 Sous règne.....Tracheobionta
 Division.....Magnoliophyta
 Classe.....Magnoliopsida
 Sous classeAstéridae
 Ordre.....Lamiales
 Famille.....Lamiaceae
 Genre.....*Thymus*
 Espèce*Thymus algeriensis*

1.7.2. Utilisation traditionnelle et activités pharmacologiques

En médecine traditionnelle, les infusions des feuilles et les décoctions de fleurs étaient utilisées comme tonique, anti-inflammatoire, antiparasitaire, antitussif et carminatif. C'est une plante herbacée parfumée largement utilisée, fraîche ou séchée, comme herbe culinaire. Elle est également largement utilisée en médecine traditionnelle contre les maladies du tube digestif et anti-abortif. En Algérie, cette plante est utilisée comme agents astringents, expectorants et cicatrisants. Le thym a été utilisé, en médecine traditionnelle marocaine, dans le traitement de la diarrhée, de la fièvre, de la toux, des zones infectées et des plaies, après administration topique ou orale (Neffati *et al.*, 2017).

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre 2 :

Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

2.1.1.1. Récolte de plante étudiée

La récolte de la plante d'intérêt est réalisée à différentes périodes de l'année, mais il est préférable de la récolter en pleine floraison. Les parties extraites sont généralement les feuilles et les fleurs. Après la récolte, le matériel végétal doit être nettoyé, séché dans un endroit sec à l'abri de la lumière et conservé dans des buccaux bien fermés jusqu'à utilisation. Le tableau 1 montre les différentes conditions de récolte de la plante *Thymus algeriensis*.

Tableau 1. Conditions et zones géographique de récolte de *Thymus algeriensis*.

	Nom scientifique	Date de récolte	Lieu	Organe
(Righi <i>et al.</i> , 2020)	<i>Thymus algeriensis</i>	Avril 2017	Bordj Bou Arreridj (Taglait)	Parties aériennes+ fleurs
(Ziani <i>et al.</i> , 2019)		Septembre 2016	Tebessa	Parties aériennes
(Megdicheksouri <i>et al.</i> 2015)		Janvier 2013	Ras-Jdir (Tunisie)	Feuilles
(Guessmi <i>et al.</i> , 2014)		Mars 2010	Gafsa, Tamerza et Kairouan	Parties aériennes+ fleurs
(Jaouadi <i>et al.</i> , 2019)			Korbous, Essabahia Jendouba, Dj Mansour, Dj chahid, Makther ' Kesra, Siliana, Sers Sousse, Toujene et Matmata	Feuilles

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction

2.2.1.1. Préparation des extraits

L'extraction solide-liquide est la procédure la plus courante pour analyser les fractions phénoliques d'origines végétales, en raison de sa simplicité, de son efficacité élevée et de sa facilité. Les composées phénoliques ont été extraits de *T. algeriensis* et utilisant différents solvants ou mélange de solvants.

Selon Righi *et al.* (2020) une quantité de 100 g de poudre des parties aérienne de *Thymus algeriensis* a été macérés dans 1 L de mélange méthanol/eau distillée (85%), pendant 24 h. Après 24 h, le résidu a été filtré puis soumis à une deuxième extraction avec un mélange méthanol/eau (50%) pendant 24 h. Après filtration, les deux filtrats sont combinés puis soumis à une évaporation à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un résidu sec. De plus, le résidu sec obtenu a été laissé pendant 24 h supplémentaires dans une étuve ventilée à 40°C pour éliminer tout solvant restant. Ensuite l'extrait brut obtenu a été conservé à -20°C.

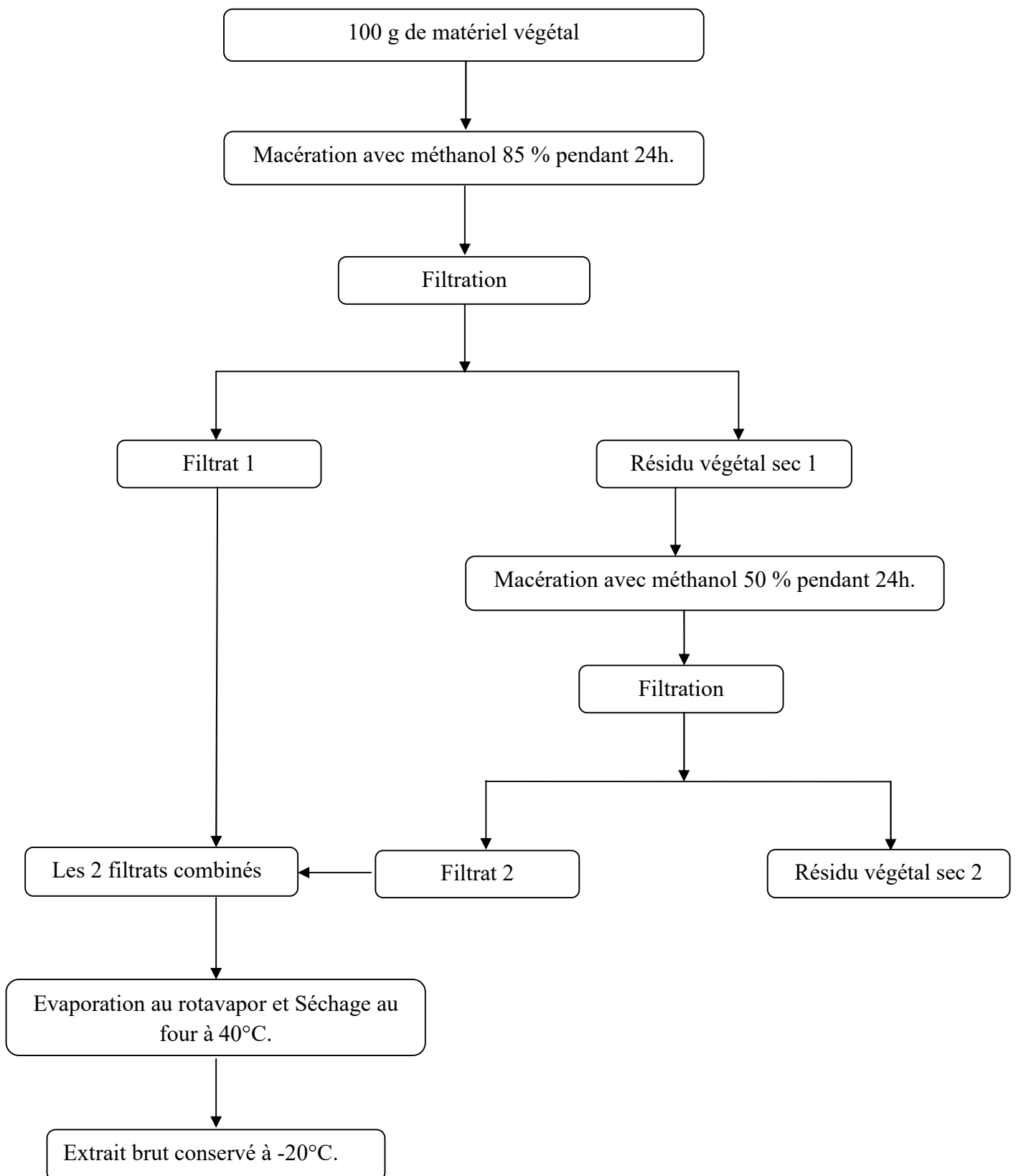


Figure 2. Protocol d'extraction des fleurs de *Thymus algeriensis* (Righi *et al.*, 2020).

Megdiche-ksouri *et al.* (2015) ont utilisé un mélange de solvants différent pour l'extraction de *Thymus algeriensis*. Une quantité de 2,5 g de poudre des feuilles de la plante ont été extraites avec 25 ml de mélange de solvants (chloroforme/méthanol) (12/5). L'extraction a été répétée deux fois. Les phases polaires (aqueuses) et non polaires (chloroforme) ont été séparées à la fois par addition de 3,5 ml d'eau et après décantation. Les composés non polaires ont été éliminés du matériel végétal lors de l'extraction dans l'extrait chloroformique qui contenait la plupart des composants des huiles essentielles, en plus des composants non volatils. La phase méthanolique/aqueuse contenant des composés non volatils (flavonoïdes et composés phénoliques) a été utilisée pour l'expérimentation. Cette dernière fraction a été évaporée sous pression réduite. Le résidu sec a été pesé et stocké à 4°C jusqu'à l'analyse.

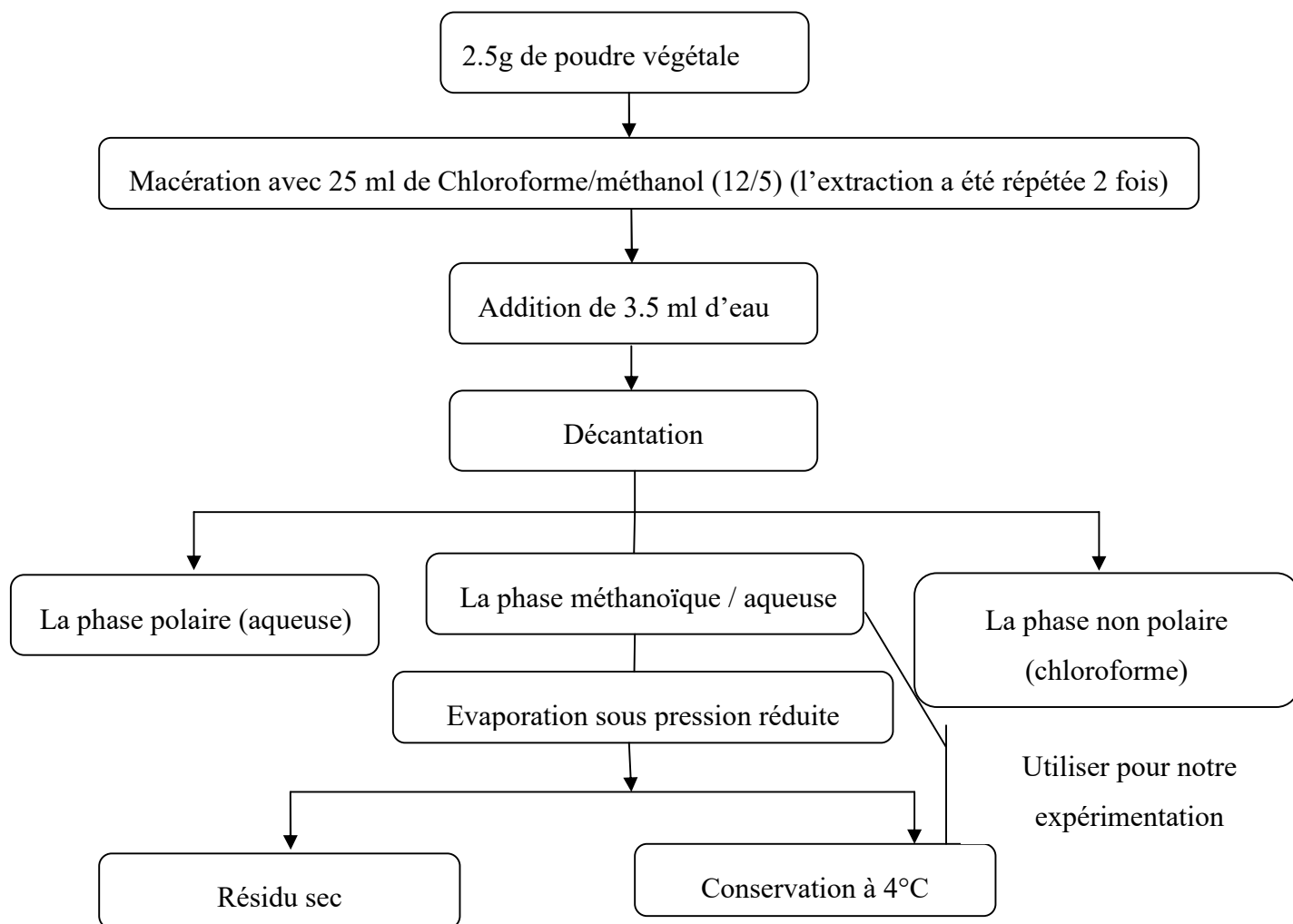


Figure 3. Protocole d'extraction des Feuilles de *Thymus algeriensis* (Megdiche-ksouri *et al.*,2015).

Trois méthodes différentes ont été utilisées pour extraire les composés bioactifs de la plante *Thymus algeriensis* dans l'étude menée par Ziani *et al.*, (2019) :

➤ Infusion

L'infusion a été obtenue en extrayant 1 g de poudre dans un rapport de 1: 100 m/v, avec eau distillée bouillante 100°C, laisser infuser pendant 5 min à température ambiante, puis filtré, congelées et lyophilisées.

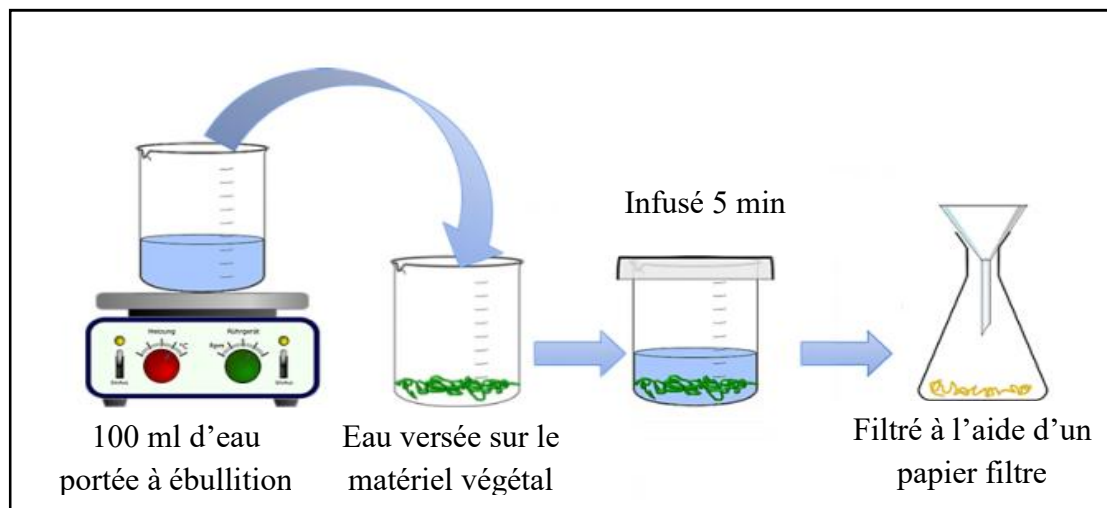


Figure 4. Etape de préparation d'une infusion aqueuse.

➤ Décoction

Cependant, pour la préparation des décoctions, 1 g de plante a été ajouté avec précision à 100 ml d'eau distillée et bouilli ensemble pendant 5 minutes et ensuite filtré, congelées et lyophilisées.

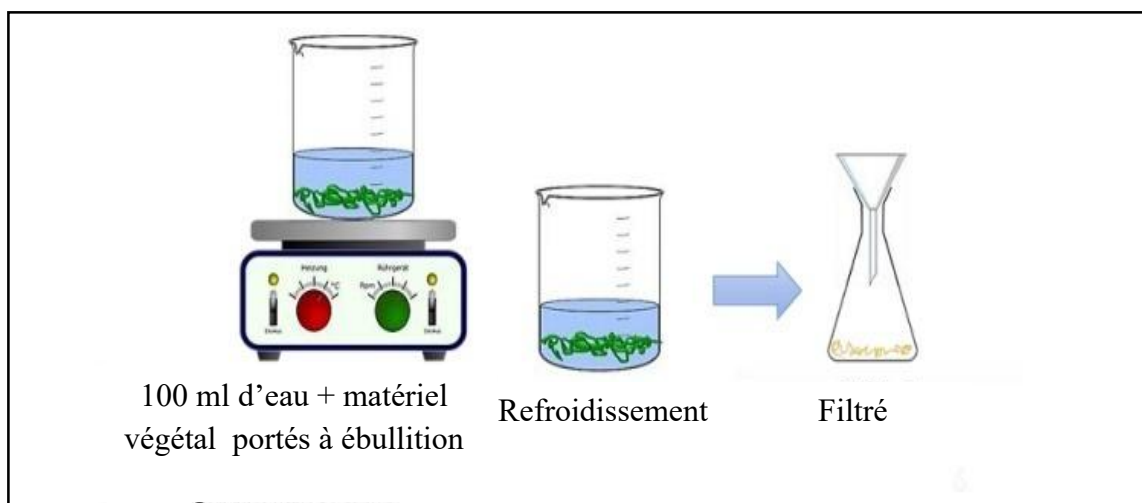


Figure 5. Etape de préparation d'une décoction aqueuse.

➤ Extraction hydro-éthanolique

Pour l'extraction hydro-éthanolique, chaque échantillon 1 g de poudre a été extrait deux fois par macération en éthanol/eau (30 ml, 80:20, v/v) à 25°C avec une vitesse d'agitation constante (150 tr/ min pendant 1 h) et ensuite filtré. Les extraits hydro-éthanoliques combinés ont été concentrés à 40°C par un évaporateur rotatif sous vide et le résidu d'eau restant a ensuite été lyophilisé.

2.2.2. Analyses chromatographiques

Les extraits mentionnés précédemment ont été redissous dans l'eau et dans l'éthanol / eau (80:20, v/v) pour les extraits aqueux et hydro-éthanolique, respectivement, et analysés en utilisant une concentration de 5 mg / ml. L'analyse LC-DAD-ESI / MSⁿ a été réalisée à l'aide d'un système chromatographique (Ziani *et al.*, 2019).

Righi *et al.* (2020) et Jaouadi *et al.* (2019) ont effectué l'analyse des composés phénoliques individuels en utilisant une UHPLC-DAD-ESI-MSⁿ. L'analyse chromatographique a été effectuée sur un instrument Ultimate 3000 (Dionex Co., Sunnyvale, Californie, USA) équipé d'un détecteur de barrette de diodes ultimes 3000 (DAD) (Dionex Co.) et couplé à un spectromètre de masse comme décrit par. L'analyse a été réalisée en utilisant une colonne Hypersil Gold C18 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) de 100mm de longueur, 2,1 mm de large, taille de particule de 1,9 µm, coiffée à 30°C. Le système d'élution à un débit de 200 µL/min faisait couler eau/acide formique (99:1 ; v/v) (solvant A) et acétonitrile / acide formique (99:1 ; v/v) (solvant B) dans le programme d'élution suivant : 5–40 % de B (0–15 min); 40-100 % de B (15-19 min); suivi du retour aux conditions initiales, avec une durée totale de 34 min. La détection a été effectuée entre 200 et 500 nm à l'aide d'un spectromètre de masse (Thermo LTQ XL (Thermo Scientific) en mode d'ionisation négative avec une source d'électro-spray (ESI). Les composés ont été identifiés à l'aide de leurs comportements spectrophotométriques et de leurs spectres de masse, en comparaison avec les données de la littérature.

2.2.3. Dosage des composés phénoliques

2.2.3.1. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu, ce réactif est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde bleue de tungstène et de molybdène. La coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait.

Ce test a été utilisé par (Guesmi *et al.* 2014 ; Megdiche-Ksouri *et al.* 2015 ; Jaouadi *et al.* 2019 ; Righi *et al.* 2020) avec quelques variations dans les volumes des réactifs.

Pour Righi *et al.* (2020) un volume de 200 µl d'extrait et 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu à 10 % sont mélangés, quatre minutes après, 800 µl de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 : 7,5 %) est ajoutée et incubé 2 heures à l'obscurité. Megdiche-Ksouri *et al.*, (2015) ont utilisé un mélange de 125 µl de tous les réactifs et incubé pendant 90 min. Guesmi *et al.*, (2014) ont incubé pour 1 h, un mélange de 50 µl extrait, 400 µl Folin-Ciocalteu et 500 µl de carbonate de sodium. L'absorbance est mesurée entre 725 et 765 nm contre un blanc qui contient 200 µl de méthanol à la place des extraits. Dans tous les cas les résultats sont exprimés en µg EAG/mg d'extrait ou µg EAG/mg de matière végétale.

2.2.3.2. Flavonoïdes Totaux

La détermination de la teneur des flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbent dans le visible à 430 nm. Cette méthode a été développée par Djeridane *et al.* (2006) et utilisé pour l'analyse des flavonoïdes du *Thymus algeriensis* par (Righi *et al.*,2020 ; Guesmi *et al.*, 2014 ; Megdiche-Ksouri *et al.*, 2015 ; Jaouadi *et al.*,2019).

Dans des tubes à essais 1 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2 % est ajouté à 1 ml d'extrait, puis le mélange est agité. L'absorbance est lue à 430 nm après incubation de 15 minutes à l'obscurité, contre un blanc qui contient 1 ml d'extrait et 1 ml de méthanol. Les résultats sont exprimés en µg Equivalents Quercétine ou Equivalents Rutine/mg d'extrait sec ou par mg de matière végétale. La catéchine peut aussi être utilisé pour exprimer les résultats.

2.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Les différents extraits de *Thymus algeriensis* ont été analysés pour leurs activités en utilisant des tests *in-vitro*, qui visent à tester les différents mécanismes par lesquels les polyphénols exercent leurs activités antioxydantes.

2.2.4.1. Inhibition de radicale DPPH

L'activité anti-radicalaire a été testée contre le radical synthétique azoté stable DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). L'évaluation de l'activité antioxydante est basée sur la mesure de la perte de couleur du DPPH après réaction avec les composés phénoliques, et la réaction est surveillée par un spectrophotomètre. Bien que le principe soit le même, une

variété de protocoles existe pour ce test, utilisant différents volumes et concentrations des réactifs.

Righi *et al.* (2020) ont suivi la méthode suivante : Un mélange de 0,5 ml de solution méthanolique de DPPH 0,1 mM et 1,5 ml d'extraits ont été incubés dans l'obscurité pendant 30 min, et l'absorbance a été mesurée à 517 nm. L'inhibition du radical DPPH a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (Ac - At / Ac) \times 100$$

Où Ac est l'absorbance du contrôle et At est l'absorbance du test.

Les courbes des inhibitions en fonction des concentrations ont été utilisées pour calculer les IC₅₀ (concentration de l'échantillon qui réduit de 50 % de la concentration initiale des radicaux libres DPPH).

Megdiche-ksouri *et al.*, (2015) ont utilisé une autre variante du même test où 1 ml d'extrait à des concentrations connues était ajouté à 0,25 ml d'une Solution méthanolique de DPPH. Le reste de la procédure est similaire à la méthode citée au-dessus. Une autre variante du test a été utilisé dans l'étude de Jaouadi *et al.* (2019) avec les volumes suivants : 1 ml d'extrait dilué a été ajouté à 3 ml de la solution méthanolique de DPPH* (4 x 10⁻⁵ M). Guesmi *et al.* (2014) ont mesuré l'absorbance à 515 au lieu 517 nm avec les volumes suivants : À une 50 µl d'extrait avec 2 ml, de solution méthanolique de DPPH (de 6x10⁻⁵ M).

2.2.4.2. Blanchiment du β-carotène

Le β-carotène est un pigment naturel rouge-orange et un antioxydant puissant, lorsqu'il est oxydé par un radical ou un agent oxydant, le β-carotène décolore rapidement. Dans le test du β-carotène, les radicaux sont générés de l'autooxydation de l'acide linoléique en présence d'oxygène, et l'ajout d'un autre antioxydant au milieu empêchera ou retardera la décoloration du β-carotène.

Le réactif du test a été préparé en mélangeant 0,5 mg de β-carotène avec 1 ml de chloroforme, 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Le chloroforme a été éliminé à 50°C, sous vide en utilisant un évaporateur rotatif. Le mélange résultant a été immédiatement dilué avec 100 ml d'eau distillée oxygénée. Des aliquotes 2500 µl de cette émulsion étaient transférés dans différents tubes à essai contenant 350 µl d'échantillons à tester. Pour Guesmi *et al.* (2014) les tubes ont été secoués et incubés à 50°C dans un bain-marie, et l'absorbance mesurée chaque 5 min à 490 nm alors que pour Righi *et al.* (2020) les tubes ont été incubés à

température ambiante pendant 48 h et les lectures après 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 24 h et 48 h toujours à 490 nm. Jaouadi *et al.* (2019) ont mesuré l'absorbance à 470 nm et ont utilisé les inhibitions pour calculer une IC₅₀.

2.2.4.3. Pouvoir réducteur des ions métalliques

Cette méthode est basée sur l'aptitude des extraits à réduire les ions métalliques comme le fer le molybdène ou le cuivre. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Pour mesurer la capacité de *Thymus algeriensis* à réduire les ions de fer, Jaouadi *et al.* (2019) et Righi *et al.* (2020) ont utilisé la méthode du TPTZ. Cette méthode est basée sur la réduction de tripyridyltriazine ferrique (Fe³⁺-TPTZ) en fer (Fe²⁺-TPTZ) à pH faible en présence d'un agent réducteur. Le réactif FRAP a été fraîchement préparé en mélangeant du tampon acétate (300 mM, pH 3,6), une solution TPTZ (10 mM TPTZ dans 40 mM HCl) et FeCl₃·6H₂O (20 mM) dans un rapport de 10 : 1 : 1. Pour réaliser le test, 900 µl de réactif FRAP ont été mélangés avec 90 µl d'eau distillée et 30 µl des échantillons dilués. L'absorbance a été mesurée à 593 nm, en utilisant le réactif FRAP comme blanc. Une courbe standard a été préparée en utilisant différentes concentrations de FeSO₄·6H₂O. Les résultats ont été exprimés en mMol Fe²⁺ / l d'extrait.

Megdiche-ksouri *et al.*, (2015) a utilisé la méthode d'Oyaizu (1986) dans même but. L'extrait méthanolique 1 ml à différentes concentrations (20 - 500 µg / ml) ont été mélangées avec 2,5 ml de solution de sodium 0,2 M tampon phosphate (pH = 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium à 1 % K₃Fe (CN)₆, puis incubés dans un bain-marie à 50°C pendant 20 min. Après cela, le mélange a été centrifugé à 650 g pendant 10 min et 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % ont été ajoutés. Le surnageant 2,5 ml a ensuite été mélangé avec 2,5 ml eau distillé et 0,5 ml de solution de chlorure ferrique à 0,1 %. L'intensité de la couleur apparaissant bleu-vert a été mesurée à 700 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en Concentration efficace à laquelle l'absorbance était de 0,5 (IC₅₀ en mg / ml) obtenue à partir d'analyse de régression.

(Megdiche-ksouri *et al.* 2015 ; Sobeh *et al.*, 2020 ; Righi *et al.*, 2020) ont aussi utilisé le molybdène à la place du fer pour mesurer le pouvoir réducteur de *Thymus algeriensis*. Ce test basé sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par l'extrait et la formation subséquente d'un complexe phosphate vert/Mo (V) à pH acide. Une fraction aliquote (0,1 ml) de feuilles a été combinée à 1 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0,6 M, phosphate de sodium 28 mM

et Molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes ont été incubés à 95°C pendant 90 minutes. Après que le mélange eut refroidi à température ambiante; l'absorbance de chaque solution a été mesurée à 695 nm (Anthelie Advanced 2, SECOMAN) contre un blanc. La capacité antioxydante a été exprimée en mg d'acide gallique équivalent par gramme de poids sec (mg EAG/g).

2.2.5. Digestion *in vitro*

Les modèles de digestion *in vitro* sont utilisés pour étudier la bioaccessibilité des polyphénols quel que soit leurs sources. Les méthodes utilisées sont décrites dans (Pinacho *et al.*, 2015 ; Gayoso *et al.*, 2016 ; Gayoso *et al.*, 2018).

2.2.5.1. L'étape orale

50 mg d'étalon ont été dissous dans 20 ml d'eau distillée ; le mélange était puis placé dans un tube Falcon et chauffé à 37°C (bain-marie) pour lancer la digestion orale simulée. Ensuite, 12,5 µl d'alpha amylase 1,3 mg/ml de solution dans 1 mM de chlorure de calcium(CaCl₂) ont été ajoutés. Le pH a été ajusté à 6,5 avec 1M de bicarbonate de sodium (NaHCO₃) et l'échantillon a été incubé dans un bain-marie à 37°C pendant 2 min sous agitation magnétique.

2.2.5.2. L'étape gastrique

Pour la digestion gastrique, sur le même tube, 16,5 µl de pepsine (160 mg/ml solution dans 0,1 M HCl) ont été ajoutés, le pH a été ajusté à 2,5 avec HCl 3M et le temps d'incubation était de 2 h à 37° C.

2.2.5.3. L'étape intestinale

Dans la phase intestinale simulée, trois procédures indépendantes (A, B et C) ont été réalisées :

- Dans la digestion A, 125 µl d'extrait de pancréatine-bile (4 mg de pancréatine + 25 mg d'extrait biliaire ml / solution dans 0,1 M NaHCO₃) a été ajouté au mélange gastrique. La digestion a continué pendant encore 2 h à 37°C après ajustement du pH à 7,5 avec 1 M NaHCO₃ ou 0,1 M. À cette étape, l'échantillon est appelé fraction intestinale (FI) et a été analysé dans son ensemble.

- Dans la digestion B, après la digestion intestinale, les échantillons ont été centrifugés (51,070 g, 4°C, 60 min) pour obtenir la fraction soluble (FS) et la fraction résiduelle (FR).
- Dans la digestion C, la phase intestinale a été réalisée avec une membrane de dialyse. Un segment de membrane de dialyse (5 à 8 cm), préalablement hydraté avec de l'eau désionisée pendant 3 heures, a été rempli sans bulles avec la quantité de NaHCO₃ (1 M ou 0,1 M) requise pour atteindre pH 7,5 dans l'échantillon intestinal (mélange postgastrique avec l'extrait de la pancréatine biliaire) plus 0,3 ml NaHCO₃ 1 M pour l'acide rosmarinique. Le sac de dialyse a été placé à l'intérieur du ballon de digestion pendant 2 h à 37°C. Ensuite, la solution à l'extérieur de la membrane de dialyse (OUT fraction) et le contenu de la membrane de dialyse (IN fraction) ont été collectés.

Le standard a été digéré en double pour chaque procédure (A, B et C). Tubes individuels pour digestion oraux, gastriques et intestinaux ont été utilisées pour assurer l'homogénéité de l'échantillon en les solutions mères pour toutes les enzymes ont été fraîchement préparées. L'échantillon obtenu à chaque étape de digestion a été lyophilisé (Cryodos-50, Telstar, Barcelone, Espagne), avec précision pesé puis dissous dans du méthanol / eau / acide formique (79,9/20 / 0,1; v / v / v) pour déterminer le montant restant de la norme après chaque phase de digestion et également pour l'analyse de l'activité antioxydant. Différentes dilutions ont été préparées pour réaliser les tests.

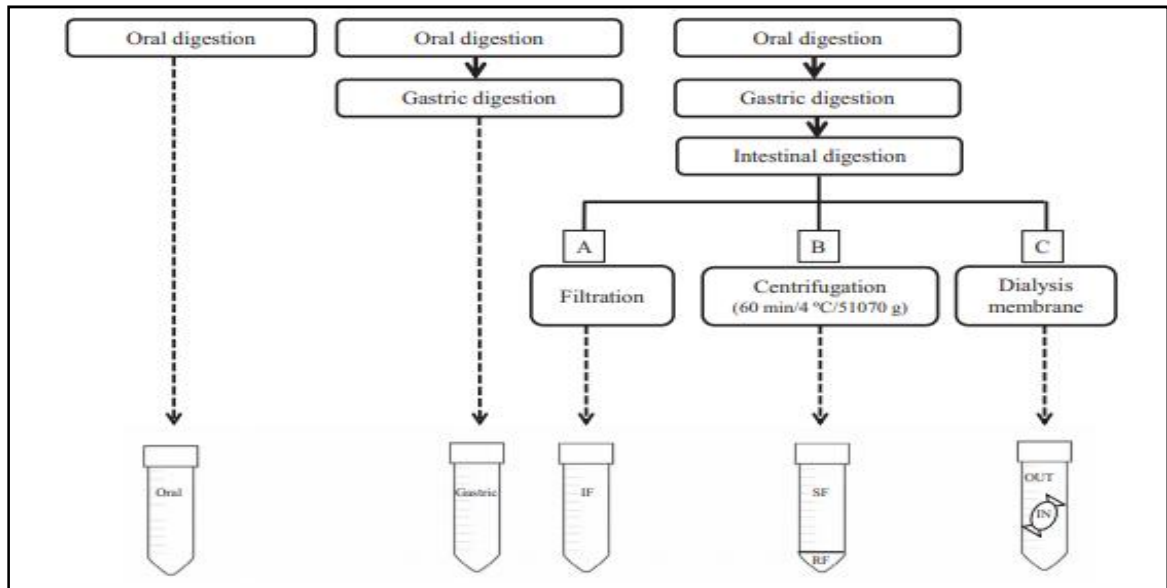


Figure 6. Procédure de digestion gastro intestinale *in vitro* appliquées aux normes de composés phénoliques. FI : fraction intestinale ; FS : fraction soluble ; FR : fraction résiduelle ; OUT : fraction non dialysée; IN: fraction dialysée (Gayoso *et al.*, 2016).

Chapitre 3 : Résultats et discussions

3.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction de *Thymus algeriensis* effectué par (Guessmi *et al.*, 2014 ; Megdich-ksouri *et al.*, 2018 ; Ziani *et al.*, 2019 ; Righi *et al.*, 2020) est présenté dans le tableau 2.

Tableau 2. Rendements des différents extraits du *Thymus algeriensis*.

Référence	Code	Région	Méthode d'extraction	Rendement (%)
(Righi <i>et al.</i> , 2020)	Ta1	Bordj Bou Arreridj (Taglait)	Macération (Méthanol aqueux, 85%)	22,6 ± 4,6
(Ziani <i>et al.</i> , 2019)	Ta2	Tebessa	Infusion (100 °C, 5 min)	n. d
			Décoction (Eau bouillante)	n. d
			Macération (Éthanol aqueux, 80%)	n. d
(Megdiche-ksouri <i>et al.</i> , 2015)	Ta3	Ras-Jdir (Tunisie)	Macération (Chloroforme /méthanol, 12/5)	n. d
(Guessmi <i>et al.</i> , 2014)	Ta4	Tamerza	Méthanol a l'aide d'un appareil Soxhlet	24,2
	Ta5	Gafsa		18
	Ta6	Kairouan		15
(Jaouadi <i>et al.</i> , 2019)	Ta7	Korbous	Macération	n. d
	Ta8	Essabahia	Méthanol	

	Ta9	Dj Mansour		
	Ta10	Jendouba		
	Ta11	Dj chahid		
	Ta12	Makther		
	Ta13	Kesra		
	Ta14	Siliana		
	Ta15	Sers		
	Ta16	Sousse		
	Ta17	Toujene		
	Ta18	Matmata		

n. d : non déterminé

Au vu de ces résultats le rendement de l'extrait hydro-méthanolique de *T. algeriensis* rapporté par Righi *et al.* (2020) (Annexe 2), $22,6 \pm 4,6$ % était supérieure aux résultats de Guessmi *et al.* (2014) (Annexe 3), pour la région de Gafsa et pour la région de Kairouan, par contre le rendement de l'extrait méthanolique de la région de Tamerza 24,2 % était supérieure aux autres régions et même à celui de Righi *et al.* (2020) aussi Khaled khoudja *et al.* (2014) a aussi rapporté un rendement inférieur pour l'extrait hydro-éthanolique $16,88 \pm 1,26$ % à celui de Righi *et al.* (2020). De même pour l'extrait acétonitrile/eau $15,27 \pm 1,5$ % et l'extraction aqueuse $16,0 \pm 2,43$ % de Guessmi *et al.* (2017) de la même espèce.

Les résultats de l'étude comparative montrent que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu par extraction méthanolique à l'aide d'un appareil Soxhlet utilisé par Guessmi *et al.* (2014). Les solutions hydro-méthanoliques sont aussi parmi les plus couramment utilisé pour extraire les polyphénols et les flavonoïdes. Les mélanges hydro-alcooliques sont plus efficaces que les systèmes mono-solvants dans l'extraction des composés phénoliques (Righi *et al.*, 2020).

3.2. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes

La teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes obtenue par dosage colorimétrique en utilisant les différents solvants d'extractions est mentionnée dans le tableau 3.

Tableau 3. Résultats du dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux des différents extraits de *T. algeriensis*.

Référence	Code	Polyphénols totaux	Flavonoïdes totaux
(Righi <i>et al.</i> ,2020)	Ta1	304 ± 3 mg EAG/g	16 ± 1 mg EQ/g
(Megdiche-ksouri <i>et al.</i> ,2015)	Ta3	248,9 ± 7,2 mg EAG/g	15,3 ± 2,3 mg EC/g
(Guessmi <i>et al.</i> , 2014)	Ta4	7,1 ± 0,7 mg EAG/g	1,08 ± 0,8 mg ER/g
	Ta5	8,7 ± 0,6mg EAG/g	2 ± 0,4 mg ER/g
	Ta6	8,8 ± 0,1 mg EAG/g	2,3± 0,4 mg ER/g
(Jaouadi <i>et al.</i> , 2019)	Ta7	9,1 ± 0,1 mg EAG/g	3 ± 0,1 mg ER/g
	Ta8	9 ± 0,2 mg EAG/g	4,8 ± 0,2 mg ER/g
	Ta9	8± 0,1 mg EAG/g	7,2 ± 0,2 mg ER/g
	Ta10	14,8 ± 0,8 mg EAG/g	9,3 ± 0,1 mg ER/g
	Ta11	12,0 ± 0,3 mg EAG/g	7,5 ± 0,1 mg ER/g
	Ta12	9,8 ± 0,4 mg EAG/g	7 ± 0,2 mg ER/g
	Ta13	12,9 ± 0,3 mg EAG/g	4,0± 0,2 mg ER/g
	Ta14	8,2 ± 0,2 mg EAG/g	4,0 ± 0,1 mg ER/g
	Ta15	11,1± 0,2 mg EAG/g	7,8 ± 0,1 mg ER/g
	Ta16	17,1± 0,3 mg EAG/g	8,3 ± 0,2 mg ER/g
	Ta17	34,4 ± 0,8 mg EAG/g	10,6 ± 0,2 mg ER/g
Ta18	31,6 ± 1 mg EAG/g	10,3 ± 0,3 mg ER/g	

Selon les résultats de Righi *et al.* (2020) l'extrait hydro-méthanolique a présenté une teneur en polyphénols totaux de 304 ± 3 mg EAG/g ce qui est nettement supérieur aux valeurs déclarées pour les feuilles de la même espèce 8,0 – 34,4 mg EAG/g signalées pour douze populations de *T. algeriensis* appartenant à des régions géographiques différentes et des zones bioclimatiques différentes en Tunisie, lorsqu'elles sont extraites avec du méthanol pur (Jaouadi *et al.*, 2019).

L'extraction aqueuse et en utilisant un mélange acétonitrile/eau réalisé par Guesmi *et al.* (2017) a donné une teneur en polyphénols totaux d'environ $4,9 \pm 0,2$ mg EAG/g d'extrait et $12,4 \pm 1,9$ mg EAG/g d'extrait respectivement.

Dans une autre étude réalisée par Guessmi *et al.* (2014) sur la plante *Thymus algeriensis* la quantité des composés phénoliques totaux a varié dans l'extrait méthanolique de 7,08 détectée pour l'échantillon Ta4 à 8,81 mg EAG/g pour l'échantillon Ta6 (Tableau 3).

Dans les travaux de Jaouadi *et al.* (2019) le contenu des composés phénoliques de *Thymus algeriensis* étaient variables (Tableau 3), les concentrations maximales étant trouvées dans les plantes récoltées des zones bioclimatiques arides supérieures 31,6 – 34,4 mg EAG/g, valeurs intermédiaires dans la population Ta16 de la zone bioclimatique semi-aride inférieure $17,1 \pm 0,3$ mg EAG/g et des niveaux inférieurs, ne dépassant pas 14,8 mg de EAG/g se trouvant dans les échantillons restants. Par rapport aux données précédentes de Guessmi *et al.* (2014) la quantité totale de composés phénoliques trouvés ici était en général supérieure à celles révélées pour la plante de *T. algeriensis* cultivées à Gafsa, Tamerza et Kairouan en Tunisie 7,08 – 8,81 mg EAG/g, et en particulier, ceux de la zone aride supérieure qui sont également supérieurs à ceux signalés pour *T. algeriensis* d'Algérie $18,73 \pm$ mg EAG/g (Boulanouar *et al.*, 2013).

La teneur en polyphénol totaux de l'extrait chloroforme/méthanol (12/5) de *Thymus algeriensis* qui a été trouvée dans l'étude de Megdiche-ksouri *et al.* (2015) $248,9 \pm 7,2$ mg EAG/g était supérieur par rapport au résultat de Jaouadi *et al.* (2019) et Guessmi *et al.* (2014) mais reste inférieur à celle trouvée par Righi *et al.* (2020).

Megdiche-ksouri *et al.* (2015) (Annexe 4), a décrit ses extraits comme étant riches en flavonoïdes avec des quantités de $15,42 \pm 2,3$ mg EC/g. Le total des flavonoïdes selon Righi *et al.* (2020) 16 ± 1 mg EQ/mg, était inférieur aux valeurs rapportées par Douar-Latreche *et al.* (2018) pour l'extraction à l'éthanol (95 %; v / v) à l'aide d'un appareil Soxhlet $52,3 \pm 0,8$ mg EQ/g.

Dans une tendance similaire, les quantités maximales des flavonoïdes totaux dans les échantillons de la zone aride supérieure 10,3 à 10,6 mg ER/g, étaient supérieures aux quantités trouvées dans la zone semi-aride inférieure, semi-arides moyennes, semi-arides supérieures et subhumides 2,8 à 9,3 mg ER/g (Jaouadi *et al.*, 2019).

Considérant l'ensemble des informations recueillies et analysées (tableau 3) avec comparaison à la littérature (pour la même plante), on peut expliquer cette différence dans les

teneurs en composés phénoliques par le métabolisme, les conditions environnementales et la répartition géographique qui peuvent modifier les constituants de la plante. Dans des conditions de terrain, la composition phénolique des tissus végétaux variait considérablement selon les facteurs saisonniers, génétiques et agronomiques (El abed *et al.*, 2014). De plus, il a été rapporté que les composés phénoliques peuvent varier avec la procédure d'extraction et le solvant utilisé (Sultana *et al.*, 2009).

3.3. Analyses des activités antioxydantes *in vitro*

Les composés phénoliques peuvent exercer leurs actions antioxydantes par plusieurs mécanismes, soit par don d'hydrogène ou d'électrons ou bien par chélation des métaux (Hussain *et al.*, 2016). Dans ce contexte, les propriétés antioxydantes des composés phénoliques des extraits de *T. algeriensis* ont été évaluées *in vitro* en utilisant différentes méthodes couvrant ces mécanismes. L'évaluation de cette activité par Jaouadi *et al.*, (2019) est montrée dans le tableau 4.

Tableau 4. Résultat de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait de *Thymus algeriensis* (Jaouadi *et al.*, 2019).

Référence	Code	Zone bioclimatique	DPPH ($\mu\text{g/ml}$)	B-carotène (mg/ml)	FRAP (mMolFe ²⁺ /l)
(Jaouadi <i>et al.</i> , 2019)	Ta7	Subhumide	42,7 \pm 2,5	1,43 \pm 0,0	2 \pm 0,0
	Ta8	Semi-aride supérieure	54,5 \pm 2,1	1,50 \pm 0,1	1,2 \pm 0,0
	Ta9		52,3 \pm 1,4	1,81 \pm 0,0	0,3 \pm 0,01
	Ta10		22,7 \pm 0,9	1,04 \pm 0,0	4,8 \pm 0,0
	Ta11		37,8 \pm 0,6	1,35 \pm 0,3	6,8 \pm 0,0
	Ta12		40,7 \pm 1,0	1,60 \pm 0,0	1,8 \pm 0,0

	Ta13		$26,6 \pm 1,4$	$1,13 \pm 0,0$	$5,1 \pm 0,0$
	Ta14	Semi-aride moyenne	$68,8 \pm 1,0$	$1,60 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,0$
	Ta15		$32,4 \pm 1,0$	$1,53 \pm 0,1$	$4,0 \pm 0,0$
	Ta16	Semi-aride inférieure	$19,9 \pm 1,1$	$0,40 \pm 0,0$	$6,5 \pm 0,05$
	Ta17	Aride supérieure	$8,9 \pm 0,1$	$0,03 \pm 0,0$	$16,7 \pm 0,1$
	Ta18		$10,3 \pm 0,4$	$0,06 \pm 0,0$	$20,6 \pm 0,2$

À l'exception de FRAP, les valeurs sont exprimées en IC_{50} , c'est-à-dire, la concentration de l'échantillon fournissant 50 % d'inhibition. L'activité de piégeage du DPPH^{*} : valeurs IC_{50} ; Inhibition du blanchiment du β -carotène : valeurs IC_{50}

Pour l'activité de piégeage du DPPH^{*} :

- le contrôle positif Trolox : $IC_{50} = 13 \mu\text{g} / \text{ml}$.
- le contrôle positif BHT : $IC_{50} = 29,4 \pm 0,02 \mu\text{g} / \text{ml}$.

3.3.1. Etude de l'activité anti-radicalaire

Selon les résultats de Righi *et al.* (2020) l'extrait hydro-méthanolique a montré des valeurs IC_{50} de 7,4 et 207 $\mu\text{g}/\text{ml}$ contre DPPH^{*} et ABTS⁺, respectivement. Les résultats sont conformes aux valeurs rapportées par Jaouadi *et al.* (2019) pour les différents extraits méthanoliques des feuilles de *T. algeriensis* 8,9 – 68,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Les mécanismes impliqués dans la réduction des radicaux DPPH/ABTS sont basés sur la capacité de certains composés à donner de l'hydrogène/électrons (Pinacho *et al.*, 2015).

Plus en détails, les populations Ta17 et Ta18, des zones bioclimatiques arides supérieures, ont présenté la meilleure capacité anti radicalaire $IC_{50} = 8,9$ et $10,3 \mu\text{g}/\text{ml}$, respectivement, qui était supérieur à celle du composé synthétique Trolox. Parmi les

populations restantes, une activité considérable a également été observée pour les populations Ta16 de la région semi-aride inférieure, et Ta10 et Ta13 de la région semi-aride supérieure valeurs IC_{50} de 19,9 ; 22,7 et 26,6 $\mu\text{g/ml}$ respectivement, tandis que Ta8 et Ta9 de la même zone bioclimatique avaient une faible activité de piégeage 54,5 et 52,3 $\mu\text{g/ml}$, respectivement.

Des résultats moins prometteurs ont été révélés par Ziani *et al.* (2019) pour l'infusion, la décoction et l'extrait hydro-éthanolique de *T. algeriensis* IC_{50} 48-131 $\mu\text{g/ml}$.

Megdiche-ksouri *et al.* (2015) a rapporté des résultats similaires à ceux de Righi *et al.* (2020) 7 et 7,4 $\mu\text{g/ml}$ respectivement en ce qui concerne la neutralisation du DPPH, par contre une activité plus faible a été enregistrée par Guessmi *et al.* (2014) et Rezzoug *et al.* (2020) cela peut probablement être en raison de la faible quantité de composés phénoliques dans leurs extraits.

La comparaison avec des antioxydants synthétiques et naturels de Righi *et al.* (2020) a permis de conclure que la capacité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus algeriensis* était assez importante. Par exemple, pour l'activité antioxydante totale de l'acide gallique et du BHA était de 722 et 386 $\mu\text{g EAA/mg}$ respectivement, tandis que l'extrait présentait 268 $\mu\text{g EAA/mg}$. Des valeurs d'AAT similaires étaient rapportées dans l'étude de Khled khoudja *et al.* (2014) qu'était de 218,37 mg EAA/g pour l'extrait d'éthanol 80 % de *Thymus algeriensis* et pour Megdiche-ksouri *et al.* (2015) qui présente une activité antioxydante totale inférieure et égale à 213,6 mg EAG/g.

3.3.2. Pouvoir réducteur (FRAP) et blanchiment du β -carotène

D'après Righi *et al.* (2020) les résultats pour la méthode FRAP montrent que la capacité des composés phénoliques à réduire le fer est de $5,3 \pm 0,0$ mM FeSO_4/mg , ce qui est une caractéristique de mécanisme de transfert d'électron. L'extrait riche en composés phénoliques a également la capacité d'inhiber la peroxydation lipidique dans le système β -carotène/acide linoléique (90% à 2 mg/ml) et de réduire le phosphatémolybdène (VI) en phosphate-molybdène (V) 268 ± 4 $\mu\text{g EAA/mg}$. De plus, l'extrait hydro-méthanolique avait la capacité à se lier au Fe^{2+} et à inhiber la formation de ferrozine Fe^{2+} IC_{50} : 512 ± 0 $\mu\text{g/ml}$, bien qu'à un degré moindre que l'EDTA utilisé comme agent standard chélateur du fer IC_{50} : $23 \pm 1,2$ $\mu\text{g/ml}$.

Selon Jaouadi *et al.* (2019) les populations de *Thymus* de la zone aride supérieure étaient également les plus efficaces en ce qui concerne le potentiel de protection du β -carotène contre le blanchiment. La même tendance a été observée dans le test FRAP, avec

valeurs de 16,7 et 20,6 mMolFe²⁺/l trouvées pour les populations Ta17 et Ta18, contrastant avec celles des échantillons restants (inférieurs à 7 mMolFe²⁺/L).

L'extrait méthanolique de *Thymus algeriensis* effectué par Jaouadi *et al.* (2019) est plus actif au test FRAP et dans le système β -carotène/acide linoléique par rapport à l'extrait hydro-éthanolique réalisé par Righi *et al.* (2020).

Dans le cas des résultats de Guessmi *et al.* (2014) la présence d'extrait de *Thym* a inhibé le blanchiment du β -carotène en agissant sur le radical libre de linoléate et d'autres radicaux formés dans le système. En conséquence, l'absorbance a diminué rapidement dans les échantillons sans antioxydant alors qu'en présence d'extrait méthanolique de Ta4, ils ont conservé leur couleur et donc absorbance, plus longtemps. Le pouvoir antioxydant a diminué dans l'ordre BHT > Ta4 > Ta6 > Ta5 pour les extraits de méthanol. La diminution de l'absorbance du β -carotène avec ou sans extrait est mesurée avec le temps.

3.4. Résultats d'analyse chromatographique des extraits (HPLC)

D'après Righi *et al.* (2020) les résultats des analyses qualitatives et quantitatives sont donnés dans les figures 7, 8, respectivement.

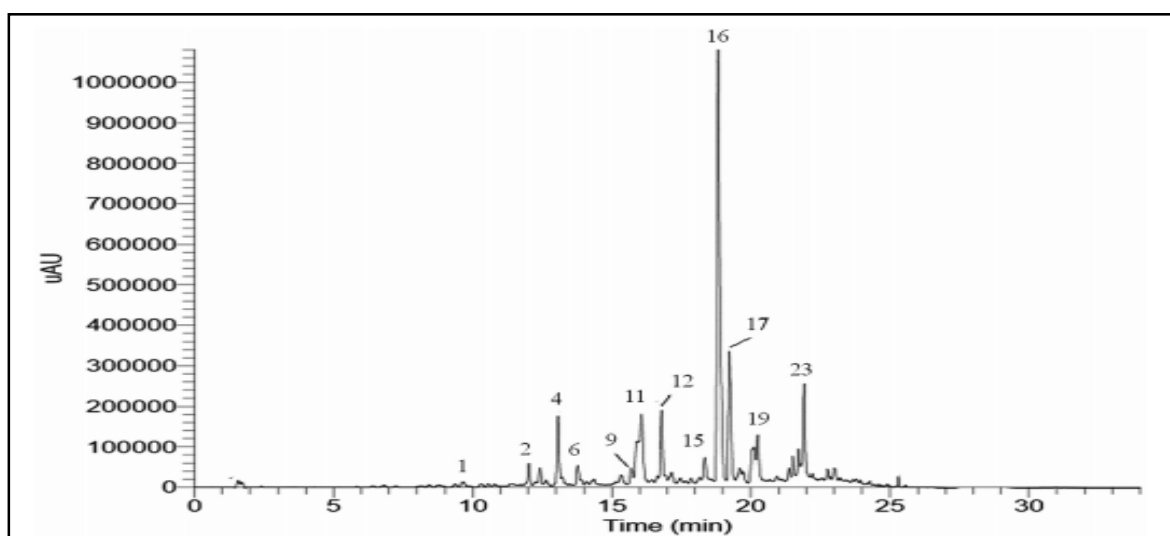


Figure 7. Profil chromatographique de l'extrait *T. algeriensis* à 280 nm (Righi *et al.*, 2020).

PN	RT (min)	UV _{max} (nm)	[M-H] ⁻	Compounds	MS ² main fragments ESI-MS ⁿ (m/z)
1	9.7	295sh, 325	179	Cafeic acid	135
2	12.0	271, 332	593	Apigenin di-C-hexoside	473, 503, 353, 383
3	12.5	283	449	Eriodictyol-O-hexoside (isomer 1)	287
4	13.1	283	449	Eriodictyol-O-hexoside (isomer 2)	287
5	13.3	269, 322	621	Apigenin di-O-hexuronide	445, 269
6	13.8	ND	477	Luteolin-O-hexuronide	301, 343, 397
7	14.4	ND	447	Luteolin-O-hexoside	285
8	15.4	282	433	Naringenin-O-hexoside	271, 313
9	15.8	255, 265, 343	463	Quercetin-O-hexoside	301, 300
10			637	Luteolin di-O-glucuronide	461, 285
11	16.2	267, 333	461	Kaempferol-O-hexuronide (isomer 1)	285
12	16.9	287sh, 319	521	Rosmarinic acid hexoside	359
13	17.3	279, 338	717	Salvianolic acid E isomer	519, 521, 475, 359
			571	Yunnanic acid E	527, 553, 509
14	18.0	282	719	Sagerinic acid	359, 539, 521, 341
15	18.5	268, 334	445	Apigenin-O-hexuronide	269, 175
16	19.0	290sh, 328	359	Rosmarinic acid	161, 197, 179, 223
17	19.4	268, 340	461	Kaempferol-O-hexuronide (isomer 2)	285
18	19.8	284	555	Salvianolic acid K isomer	493, 357, 537
19	20.4	288, 324	537	Caffeoyl rosmarinic acid (isomer 1)	493, 359, 357
20	21.5	287sh, 324	373	Unknown compound	161, 179, 355, 197, 329, 311, 175, 223
21	21.7	287sh, 324	563	Unknown compound	387, 531, 489
22	21.9	287sh, 330	717	Salvianolic acid B	519, 537, 493
23	22.0	287sh, 329	537	Caffeoyl rosmarinic acid (isomer 2)	493, 515

PN – Peak Number; RT – Retention Time; sh – peak shoulder.

Figure 8. Composés phénoliques identifiés dans les extraits de *Thymus algeriensis* par UHPLC-DAD-ESI-MSⁿ. L'ion produit avec une abondance relative de 100 % est en gras (Righi *et al.*, 2020).

Selon Righi *et al.* (2020) au total vingt-trois composés phénoliques ont été identifiés, distribués en flavonoïdes et dérivés d'acide phénolique. Le composé le plus répandus était l'acide rosmarinique, déjà signalé dans *T. algeriensis* par Jaouadi *et al.* (2019) et Ziani *et al.* (2019) un autre dérivé de l'acide caféique a été identifié et qui correspond à l'acide caffeoyl rosmarinique. Le troisième composé majeur est un dérivé du kaempférol-O-hexuronide.

D'après les résultats de Jaouadi *et al.* (2019) les composés phénoliques individuels des populations distinctes de *Thymus* ont été élucidés par analyse UHPLC-DAD-ESI-MSⁿ des extraits méthanoliques respectifs. Différents Composés phénoliques ont été identifiés parmi les populations de *T. algeriensis*. A l'exception de Ta17 et Ta18 de la zone aride supérieur l'acide rosmarinique était le principal composant phénolique identifié dans les extraits. Ceci est cohérent avec l'abondance générale de plantes *Thymus* en dérivés de l'acide caféique, en particulier l'acide rosmarinique, ce qui est également en accord avec le les travaux récents de Ziani *et al.*(2019) qui ont montrés que contrairement aux extraits aqueux (dominés par flavones), l'extrait hydro-alcoolique (dans ce cas précis hydro-éthanolique) d'un spécimen de *T. algeriensis* d'Algérie était principalement riche en acide rosmarinique.

En outre, des études réalisées par Ziani *et al.*, (2019) montre que la composition phénolique de *T. algeriensis* était caractérisée par la présence de dix-sept composés dont six étaient des dérivés de l'acide phénolique (Hexoside d'acide rosmarinique, Acide Salvianolique K, acide rosmarinique, Isomère I de l'acide lithospermique A, Isomère II de l'acide lithospermique A), et onze étaient des flavonoïdes liés à des groupes glycosyle (apigénine-6,8

-C-dihexoside, Naringenin-O-hexoside, lutéoline-7-O-glucuronide, Quercétine-O-malonyhexoside, apigénine-7-O-glucuronide, kaempférol-O-glucuronide).

Néanmoins, l'acide rosmarinique était l'acide phénolique le plus abondant, tandis que le kaempférol-O-glucuronide était le principal flavonoïde présent.

Par contre, L'analyse chromatographique (HPLC) menés par Guessmi *et al.* (2014) a permis l'identification de onze composés phénoliques dans les extraits méthanoliques de *Thymus hirtus* sp. *Algeriensis*, dont huit acides phénoliques (acide caféique, acide férulique, acide gallique, acide hydroxyphénylique, acide vanillique, acide syringique, galate de méthyle, et cinq flavonoïdes (rutine, (+) - catéchine hydrate, vanilline, flavone). Parmi les composés phénoliques mentionnés, était présent dans les plus grandes quantités de 5581,77 µg/g suivi des flavones.

Cependant, des résultats différents ont été obtenus par Sobeh *et al.* (2020) Au total, trente-cinq métabolites secondaire sont été provisoirement identifiés principalement l'acide rosmarinique et ses dérivés glucosidique (glucoside d'acide rosmarinique), glucuronide de lutéoline et acide salvianolique ont dominés dans l'extrait de *T. algeriensis*.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que, l'acide rosmarinique est le principal composé phénolique dominant dans l'extrait de *Thymus algeriensis* et les différences entre les niveaux de composés phénoliques peuvent être liées aux conditions environnementales (Guessmi *et al.*, 2014).

3.5. Résultats de digestion *in vitro*

Des modèles *in vitro* ont été largement utilisés pour évaluer la bioaccessibilité des métabolites secondaires comme les polyphénols (Gayoso *et al.*, 2018), l'effet de différentes méthodes de digestion gastro-intestinale *in vitro* sur la stabilité et la bioaccessibilité de composé phénolique a été évalué.

Le tableau 5 montre l'évolution de la quantité d'acide rosmarinique (mg) au cours des différentes digestions.

Tableau 5. Evolution de l'acide rosmarinique (moyenne \pm écart type) déterminée par HPLC au cours de digestion gastro-intestinale *in vitro* (Gayoso *et al.*, 2016).

	Phase	Acide rosmarinique	
		Total en (mg)	Extrait lyophilisé et digéré (mg/mg)
Reference	Initiale	50,53 \pm 0,67	1,01 \pm 0,07
(Gayoso <i>et al.</i> , 2016)	Orale	42,95 \pm 0,84	0,68 \pm 0,02
	Gastrique	46,39 \pm 3,38	0,69 \pm 0,05
	Centrifugation (A)		
	FS	34,83 \pm 0,78	0,30 \pm 0,02
	FR	n. d	n. d

FS : Fraction soluble ; FR : Fraction résiduel.

D'après les résultats de Gayoso *et al.* (2016) il n'y avait pas de différence significative entre la quantité initiale de digestion et la quantité récupérée lors des étapes orales et gastriques, indiquant que ces étapes n'altéraient pas significativement la stabilité des composés phénoliques étudiés en particulier l'acide rosmarinique dans ce cas.

Ces résultats sont en accord avec les études précédents où les composés présents dans les aliments Rodríguez-Roque *et al.* (2013) extraits de plantes Pinacho *et al.* (2015) et composés phénoliques purs comme les acides phénoliques et les flavonols, ont démontré leur stabilité dans des conditions gastriques (pH acide). Le (tab. 5) également montre l'évolution d'acide rosmarinique exprimée en mg/mg d'échantillon digéré et lyophilisé. Dans ce cas, après l'étape orale et l'étape gastrique, l'acide rosmarinique a diminué significativement. Ces résultats sont conformes aux valeurs rapportées par Dou *et al.*, (2019).

Bien que certaines études de Kamiloglu *et al.* (2016) et Siracusa *et al.* (2011) aient également décrit la perte de certains composés phénoliques lors de la digestion orale et de

gastrique, la plupart des composés phénoliques restent stables. En fait, la phase orale dure quelques minutes et la dégradation des polyphénols est généralement dépendante du temps.

De plus Pineda-Vadillo *et al.* (2016) ont été décrit que le pH acide au stade gastrique peut protéger les polyphénols de la dénaturation. Gayoso *et al.* (2016) indiquent dans leur étude que les composés présentent un degré de dégradation plus élevé durant l'étape intestinale. La grande perte d'acide phénolique après l'étape de digestion intestinale peut s'expliquer par l'instabilité de ce composé en conditions alcalines. Par conséquent, l'instabilité de ce composé dans des conditions alcalines peut être attribuée au fait qu'il a subi certains changements, tels que l'oxydation, la polymérisation et la transformation. Il a été rapporté que la diminution de la concentration de composés phénoliques dans des conditions alcalines est liée à la formation de complexes entre ce composé et des ions métalliques, des protéines et / ou des fibres (Lucas-Gonzalez *et al.*, 2016).

D'après les résultats de Gayoso *et al.* (2018) les extraits ont été soumis à un processus de digestion intestinale *in vitro* afin d'évaluer leur stabilité dans des conditions gastro-intestinales. La perte d'autres composés, par exemple la lutéoline-7-O-glucoside (36 %) ou glycoside de lutéoline (41 %) étaient apparente, en accord également avec d'autres études qui ont décrit des pertes substantielles de composés individuels dans des conditions alcalines douces (Siracusa *et al.*, 2011 et Pinacho *et al.*, 2015). La composition de la matrice alimentaire, dans laquelle se trouvent les polyphénols, semble être un facteur important qui affecte la stabilité et la digestibilité. Des données antérieures et ces résultats soulignent l'effet protecteur de la matrice d'extrait de plante sur ses composants, comme rapporté par (Siracusa *et al.*, 2011).

Des études menées par Parada et Aguilera, (2007) montrent que la bioaccessibilité d'un composé est influencée par de nombreux facteurs, tels que l'état chimique du composé, la matrice alimentaire, interactions avec d'autres composants ou présence des suppresseurs ou cofacteurs. Tous ces variables, ainsi que la méthodologie pour obtenir la fraction bioaccessible pourrait expliquer la grande variabilité des résultats présents dans la littérature.

3.5.1. Evolution de l'activité antioxydante de l'acide rosmarinique (dosage pendant la digestion gastro-intestinale *in vitro*).

Gayoso *et al.* (2016) ont réalisés les tests DPPH et ABTS pour mesurer la capacité de piégeage des radicaux libres des échantillons au cours du processus de digestion (tableau 6).

Tableau 6. Evolution de l'activité antioxydante de l'acide rosmarinique (dosage DPPH, test ABTS) pendant la digestion gastro-intestinale *in vitro* (Gayoso *et al.*, 2016).

Référence		DPPH		ABTS	
		Echantillon digéré lyophilisé μg Trolox / mg	AA %	Echantillon digéré lyophilisé μg Trolox / mg	AA%
(Gayoso <i>et al.</i> , 2016)	Initiale	951,64 \pm 37,90	100	1871,72 \pm 70,18	100
	Orale	741,25 \pm 40,32	78	1530,66 \pm 26,76	82
	Gastrique	724,80 \pm 3,49	76	1193,23 \pm 89,29	64
	Centrifugation				
	FS	270,66 \pm 10,10	28	602,58 \pm 13,62	32
	FR	-	-	-	-

FS : Fraction soluble ; FR : Fraction résiduel

Les résultats ont été exprimés en μg Trolox/mg échantillon digéré lyophilisé afin de connaître la capacité antioxydante à chaque étape, quel que soit le ou les composés responsables de cette activité, bien que les valeurs ABTS soient supérieures à ceux de DPPH, après les phases orale et gastrique, une légère diminution de la l'activité antioxydante de l'acide rosmarinique était observées 36 – 24 %, une activité antioxydante encore plus élevé évaluée par DPPH par rapport à l'échantillon initial.

Cependant, après la digestion intestinale, la diminution de l'activité antioxydante était significative. Une tendance similaire (perte de la capacité antioxydant pendant la digestion intestinale) a déjà été signalée dans la digestion de différents aliments (Carbonell-Capella *et al.*, 2014 et Celep *et al.*, 2015).

Concernant les fractions bioaccessibles (FI, FS et IN), il n'y avait pas de différence significative dans l'activité antioxydante. Néanmoins, l'acide rosmarinique a montré des valeurs élevées de DPPH et ABTS dans les fractions IN, Par conséquent l'activité antioxydante trouvée dans chaque fraction bioaccessible dépendait principalement du composé lui-même plutôt que de la méthodologie utilisée. De plus, les valeurs d'activité antioxydante étaient également considérables dans les échantillons OUT et FR (Gayoso *et al.*, 2016).

Conclusion

Conclusion

Notre étude s'est portée sur la composition phytochimique et l'activité antioxydante des extraits de *Thymus algeriensis*. Le rendement des extraits a varié entre 15 et 22.6 %. L'évaluation du contenu des polyphénols révèle une teneur intéressante entre 7,1 et 304 mg EAG/g, la même constatation a été faite pour la teneur en flavonoïdes qui varie entre 1,08 et 16 mg EQ/g.

Les résultats montrent que les extraits obtenus par les différents procédés d'extraction possèdent une très bonne activité antiradicalaire et un excellent pouvoir réducteur, possédant ainsi diverses propriétés biologiques liées à cette activité antioxydante. En ce qui concerne le blanchiment du β -carotène les extraits de *Thymus algeriensis* se sont montrés très actifs.

L'analyse qualitative par HPLC des différents extraits a montrée la présence de grande quantité de l'acide rosmarinique considéré comme un composé antioxydant très puissant. En effet, la digestion buccale et gastrique n'a eu aucun effet substantiel sur ce composé phénolique cependant, ce composé a été considérablement modifié lors de la digestion intestinale. Les résultats ont montré que les polyphénols étaient sensibles aux conditions alcalines dans l'intestin grêle et qu'une bonne proportion de ces composés serait transformée en d'autres formes structurelles avec une faible activité antioxydante après digestion.

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 et les facteurs influençant.

Références bibliographiques

A

Achi N., 2017. Etude de l'activité antibactérienne des extraits essentiels des deux plantes à caractère thérapeutique : *Nigella sp* et *Thymus algeriensis* vis-à-vis quelques bactéries pathogènes à l'hôpital Boufarik. Mémoire de Master, Université Blida-1, Algérie, 64 p.

Amarti F., El Ajjouri, M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., Guedira A., Rahouti M., Chaouch A. 2011. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9 (3), 149-157.

B

Bouhaddouda N., 2016. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar –Annaba, Algérie, 112 p.

Boulanouar B., Abdelaziz G., Aazza S., Gago C., Miguel M. G. 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46, 85-96.

Borel P. 2014. Biodisponibilité des phytomicronutriments : Mécanismes impliqués et stratégies d'amélioration. *Innovations Agronomiques* 42 (2014), 27-37.

Bougandoura N., Bendimerad N. 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Revue « Nature & Technologie »*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/Juin 2013. Pages 14 à 19.

C

Chung K. T., Wei C. I., Johnson M. G. 1998. Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends in Food Science and Technology*, 9(4), 168-175.

Carbonell-Capella J. M., Buniowska M., Barba F. J., Esteve M. J., Frígola A. 2014. Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables: A Review : Bioavailability of bioactive compounds.... Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13 (2), 155-171.

Celep E., Charehsaz M., Akyüz S., Acar E. T., Yesilada E. 2015. Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioavailability of phenolic components and the antioxidant potentials of some Turkish fruit wines. Food Research International, 78, 209-215.

D

D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. Ann Ist Super Sanità 2007 Vol. 43, No. 4: 348-361.

D'Archivio M., Filesi C., Vari R., Scazzocchio B., Masella R. 2010. Bioavailability of the Polyphenols : Status and Controversies. International Journal of Molecular Sciences, 11(4), 1321-1342.

De Freitas Queiroz Barros H. D., Maróstica Junior M. R. 2019. Phenolic Compound Bioavailability Using *In Vitro* and *In Vivo* Models. In Bioactive Compounds (p.113-126). Elsevier.

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.

Dob T., Dahmane D., Benabdelkader T., Chelghoum C. 2006. Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. Reut. International Journal of Aromatherapy, 16(2), 95-100. International journal of pharmaceutical research and Bio-Science. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21 (2), 449-461.

Douar-Latreche S., Benchabane O., Sahraoui N., Hazzit M., Mouhouche F., Baaliouamer A. 2018. Effect of Gamma Irradiation on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Thymus algeriensis* Extracts. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21(2), 449-461.

Dou Z., Chen C., Fu X. 2019. Bioaccessibility, antioxidant activity and modulation effect on gut microbiota of bioactive compounds from *Moringa oleifera* Lam. Leaves during digestion and fermentation *in vitro*. Food Function, 10 (8), 5070-5079.

F

Edeas M. 2007. Les polyphénols et les polyphénols de thé. Phytothérapie, 5 (5), 264-270.

Eddouks M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid A., Khalidi A., Lemhadri A. 2007. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. Phytothérapie, 5(4), 194-203.

El abed N., Guesmi F., Mejri M., Marzouki M. N., Ben hadj A. S. 2014. Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal plants.

F

Fadel F., Fattouch S., Tahrouch S., Lahmar R., Benddou A., Hatimi A. 2011. The phenolic compounds of *Ceratonia siliqua* pulps and seeds (Les composés phénoliques des pulpes et des graines de *Ceratonia siliqua*). J. Mater. Environ. Sci. 2 (3) (2011) 285-292.

Fardet A. 2013. Structure des aliments et effets nutritionnels. Éditions Quae RD10, 78026 Versailles Cedex, France, 456 p.

Favier A. 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64 (6), 390-396.

G

Gayoso L., Claerbout A. S., Calvo M. I., Cavero R. Y., Astiasarán I., Ansorena D. 2016. Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the *in vitro* gastrointestinal digestion models. Journal of Functional Foods, 26, 428-438.

Gayoso L., Roxo, M., Cavero R. Y., Calvo M. I., Ansorena D., Astiasarán I., Wink M. 2018. Bioaccessibility and biological activity of *Melissa officinalis*, *Lavandula latifolia* and *Origanum vulgare* extracts : Influence of an *in vitro* gastrointestinal digestion. Journal of Functional Foods, 44, 146-154.

Guesmi F., Ben Farhat M., Mejri M., Landoulsi A. 2014. *In-vitro* assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of *Thymus hirtus* sp. *algeriensis*. Higher Institute of Technological Studies (ISET), Mogran, Zaghouan, Tunisia.

Guesmi F., Ben Hadj A. S., Landoulsi A. 2017. Investigation of Extracts from Tunisian Ethnomedicinal Plants as Antioxidants, Cytotoxins, and Antimicrobials. Biomed Environ Sci, 2017 ; 30 (11): 811-824 Biomed Environ Sci, 2017 ; 30(11) : 811-824.

Hf

Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 2(1), 3-6.

Hilan C, Sfeir R., Jawish D., Aitour S. 2006. Huiles essentielles de certaines plantes médicinales Libanaises de la famille des Lamiaceae. Lebanese Science Journal, Vol. 7, No. 2, 2006.

Hussain T., Tan B., Yin Y., Blachier F., Tossou M. C. B., Rahu N. 2016. Oxidative Stress and Inflammation : What Polyphenols Can Do for Us? Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, 1-9.

J

Jaouadi S., Boussaid Y., Cardoso Z. 2019. Differentiation of Phenolic Composition Among Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) Populations : Correlation to Bioactive Activities. Antioxidants, 8 (11), 515.

K

Karaś M., Jakubczyk A., Szymanowski U., Zotek U., Zielińska E. 2017. Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. *International Journal of Food Science Technology*, 52 (2), 291-305.

Kamiloglu S., Capanoglu E., Bilen F. D., Gonzales G. B., Grootaert C., Van de Wiele T., Van Camp J. 2016. Bioaccessibility of Polyphenols from Plant-Processing Byproducts of Black Carrot (*Daucus carota* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (12), 2450-2458.

Khadir A., Bendahou, M., Benbelaid F., Abdoune M A., Abdelouahid D. E. 2013. Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf., récolté en Algérie. *Phytothérapie*, 11 (6), 353-358.

Khledkhoudja N., Boulekbache-Makhlouf L., Madani K. 2014. Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*, 52, 177-182.

Kumar N., Goel N. 2019. Phenolic acids : Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, 370.

L

Lucas-Gonzalez R., Navarro-Coves S., Pérez-Álvarez J. A., Fernández-López J., Muñoz L. A., Viuda-Martos M. 2016. Assessment of polyphenolic profile stability and changes in the antioxidant potential of maqui berry (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) during *in vitro* gastrointestinal digestion. *Industrial Crops and Products*, 94, 774-782.

M

Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. et Jimé'nez L. 2004. Polyphenols : food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004 ; 79 : 727-47.

Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A., Rémésy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies1-3. *Am J Clin Nutr* 2005 ; 81 (suppl): 230S- 42S.

Megdiche-ksouri W., Saada M., Soumayam B., snoussi M., Zaouali Y., Ksouri R. 2015. Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents.

Ménard O., Dupont D. 2014. A tous et limites des modèles de digestion gastro-intestinale : de l'*in vitro* à l'*in vivo*. Innovations Agronomiques 36 (2014), 27-41.

Morand C. 2013. Les polyphénols du thé et du cacao ont-ils des effets santé? Phytothérapie, 11 (2), 92-99.

N

Neffati M., Najjaa H., Máthé Á. 2017. Medicinal and aromatic plants of the world Africa, Vol, 3, Springer, Tunisia and Hungary. 415 p.

O

Olejniak O., Masek A., Kiersnowski A. 2020. Thermal Analysis of Aliphatic Polyester Blends with Natural Antioxidants. Polymers, 12 (1), 74.

Ovando-Martínez M., Gámez-Meza N., Molina-Domínguez C. C., Hayano-Kanashiro, C., Medina-Juárez L. A. 2018. Simulated Gastrointestinal Digestion, Bioaccessibility and Antioxidant Capacity of Polyphenols from RedChiltepin (*Capsicum annuum* L. Var. *Glabriusculum*) Grown in Northwest Mexico. Plant Foods for Human Nutrition, 73 (2), 116-121.

Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics, 44 (6), 307-315.

P

Philippe Bidie A. D. 2011. Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Sciences et Nature Vol. 8 N°1: 1 – 11.

Parada J., Aguilera J. M. 2007. Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. Journal of Food Science, 72(2), R 21-R 32.

Pinacho R., Cavero R. Y., Astiasarán I., Ansorena D., Calvo M. I. 2015. Phenolic compounds of blackthorn (*Prunus spinosa L.*) and influence of in vitro digestion on their antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods*.

Pineda-Vadillo C., Nau F., Dubiard C. G., Cheynier, V., Meudec E., Sanz-Buenhombre M., Guadarrama A., Tóth T., Csavajda É., Hingyi H., Karakaya S., Sibakov J., Capozzi F., Bordoni A., Dupont D. 2016. *In vitro* digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts : Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. *Food Research International*, 88, 284-292.

R

Rezzoug M., Bakchiche B., Gherib A., Roberta A., Flamini G., Kiliñarslan Ö., Mammadov R., Bardaweel S. K. 2019. Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum L.* and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. From the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19 (1).

Rodríguez-Roque M. J., Rojas-Graü M. A., Elez-Martínez P., Martín-Belloso O. 2013. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 136 (1), 206-212.

Righi N., Boumerfeg S., Fernandes P. A. R., Deghima A., Baali F., Coelho E., Cardoso S. M., Coimbra M. A., Baghiani A. 2020. *Thymus algeriensis* Boiss and Reut : Relationship of phenolic compound composition with *in vitro/in vivo* antioxidant and antibacterial activity. *Food Research International*, 136, 19500.

S

Sarr O., Fall A., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., Ndiaye B., Diop Y. 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, (9), 1263.

Safer S., 2018. Teneur en polyphénols, tannins et flavonoïdes et capacité antioxydante d'extrait méthanolique d'une plante. Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Algérie, 32 p.

Santos D. I., Saraiva J. M. A., Vicente A. A. Moldão-Martins M. 2019. Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients. In Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds (p. 23-54). Elsevier.

Saura-Calixto F., Serrano J., Goñi I. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. Food Chemistry, 101 (2), 492-501.

Sobeh M., Rezaq S., Cheurfa M., Abdelfattah M. A. O., Rashied R. M. H., El-Shazly A. M., Yasri A., Wink M., Mahmoud M. F. 2020. *Thymus algeriensis* and *Thymus fontanesii* : Chemical Composition, *In Vivo* Antiinflammatory, Pain Killing and Antipyretic Activities : A Comprehensive Comparison. Biomolecules, 10 (4), 599.

Sereme A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S., Nacro M. 2008. Propriétés thérapeutiques des Plantes A Tanins du Burkina Faso. Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines, 2008 ; 15 : 41 – 49.

Siracusa L., Kulisic-Bilusic T., Politeo O., Krause I., Dejanovic B., Ruberto G. 2011. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Aqueous Infusions from *Capparis spinosa* L. and *Crithmum maritimum* L. before and after Submission to a Two-Step *in Vitro* Digestion Model. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59 (23), 12453-12459.

Suhaj M. 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity : A review. Journal of Food Composition and Analysis, 19 (6-7), 531-537.

Sultana B., Anwar F., Ashraf M. 2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. Molecules, 14 (6), 2167-2180. ESI/MSn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. And Reut. And *Ephedra alata* Decne. Food Research International, 116, 312-319.

J

Tahari Z., Medjdoub A., Sahraoui T., Tahari F. Z., Soulimani R., Bousahba A., EKeber F. Z. 2013. Analyse de l'état du stress oxydatif dans le cancer du sein à l'Ouest algérien via les tests FORD et FORT et corrélation avec le grade histopronostique SBR. Journal Africain du Cancer/African Journal of Cancer, 5 (1), 16-21.

Touhami A. 2017. Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, 114p.

Z

Ziani B. E. C., Heleno S. A., Bachari K., Dias M. I., Alves M. J., Barros L., Ferreira I. C. F. R. 2019. Phenolic compounds characterization by LC-DAD-ESI/MSⁿ and bioactive properties of *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. And *Ephedra alata* Decne. Food Research International, 116, 312-319.

Annexes

Annexe 1. Liste de publications analysées dans l'étude de *Thymus algeriensis*.

N°	Référence
1	Boulanouar B., Abdelaziz G., Aazza S., Gago C., Miguel M. G. 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. <i>Industrial Crops and Products</i> , 46, 85-96. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.020
3	Carbonell-Capella J. M., Buniowska M., Barba F. J., Esteve M. J., Frígola A. 2014. Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables: A Review: Bioavailability of bioactive compounds.... <i>Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety</i> , 13 (2), 155-171. https://doi.10.1111/1541-4337.12049
4	Celep E., Charehsaz M., Akyüz S., Acar E. T., Yesilada E. 2015. Effect of <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion on the bioavailability of phenolic components and the antioxidant potentials of some Turkish fruit wines. <i>Food Research International</i> , 78, 209-215. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.10.009
13	Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. <i>Food Chemistry</i> , 97(4), 654-660. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028
5	Dou Z., Chen C., Fu X. 2019. Bioaccessibility, antioxidant activity and modulation effect on gut microbiota of bioactive compounds from <i>Moringa oleifera</i> Lam. Leaves during digestion and fermentation <i>in vitro</i> . <i>Food and Function</i> , 10 (8). https://doi.10.1039/C9FO00793H
6	El abed N., Guesmi F., Mejri M., Marzouki M. N., Ben hadj A. S. 2014. Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal

7	Gayoso L., Claerbout, A. S., Calvo M. I., Cavero R. Y., Astiasarán I., Ansorena D. 2016. Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion models. Journal of Functional Foods, 26, 428-438. http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.003
8	Gayoso L., Roxo M., Cavero R. Y., Calvo M. I., Ansorena D., Astiasarán I., Wink M. 2018. Bioaccessibility and biological activity of <i>Melissa officinalis</i> , <i>Lavandula latifolia</i> and <i>Origanum vulgare</i> extracts: Influence of an <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion. Journal of Functional Foods, 44, 146-154. https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.03.003
9	Guesmi F., Ben Farhat M., Mejri M., Landoulsi A. 2014. <i>In-vitro</i> assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of <i>Thymus hirtus sp. algeriensis</i> . Higher Institute of Technological Studies (ISET), Mogran, Zaghouan, Tunisia.
10	Guesmi F., Ben Hadj A. S., Landoulsi A. 2017. Investigation of Extracts from Tunisian Ethnomedicinal Plants as Antioxidants, Cytotoxins, and Antimicrobials. Biomed Environ Sci, 2017; 30(11): 811-824 Biomed Environ Sci, 2017; 30(11): 811-824.
11	Hussain T., Tan B., Yin Y., Blachier F., Tossou M. C. B., Rahu N. 2016. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, 1-9. http://dx.doi.org/10.1155/2016/7432797
12	Jaouadi S., Boussaid Y., Cardoso Z. 2019. Differentiation of Phenolic Composition Among Tunisian <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. ET Reut. (Lamiaceae) Populations: Correlation to Bioactive Activities. Antioxidants, 8(11), 515. http://dx.doi.org/10.3390/antiox8110515
14	Kamiloglu S., Capanoglu E., Bilen F. D., Gonzales G. B., Grootaert C., Van de Wiele T., Van Camp J. 2016. Bioaccessibility of Polyphenols from Plant-Processing Byproducts of Black Carrot (<i>Daucus carota</i> L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64 (12), 2450-2458. https://doi.10.1021/acs.jafc.5b02640

15	Khledkhouidja N., Boulekbache-Makhlouf L., Madani K. 2014. Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. <i>Industrial Crops and Products</i> , 52, 177-182. http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.004
16	Lucas-Gonzalez R., Navarro-Coves S., Pérez-Álvarez J. A., Fernández-López J., Muñoz L.A., Viuda-Martos M. 2016. Assessment of polyphenolic profile stability and changes in the antioxidant potential of maqui berry (<i>Aristotelia chilensis</i> (Molina) Stuntz) during <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion. <i>Industrial Crops and Products</i> , 94, 774-782. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.057
17	Megdiche-ksouri W., Saada M., Soumayam B., snoussi M., Zaouali Y., Ksouri R. 2015. Potential use of wild <i>Thymus algeriensis</i> and <i>Thymus capitatus</i> as source of antioxidant and antimicrobial agents.
18	Parada J., Aguilera J. M. 2007. Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. <i>Journal of Food Science</i> , 72(2), R21-R32. https://doi.10.1111/j.1750.3841.2007.00274.x
19	Pinacho R., Cavero R.Y., Astiasarán I., Ansorena D., Calvo M. I. 2015. Phenolic compounds of blackthorn (<i>Prunus spinosa</i> L.) and influence of <i>in vitro</i> digestion on their antioxidant capacity. <i>Journal of Functional Foods</i> . http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.015
20	Pineda-Vadillo C., Nau F., Dubiard C. G., Cheynier, V., Meudec E., Sanz-Buenhombre M., Guadarrama A., Tóth T., Csavajda É., Hingyi H., Karakaya S., Sibakov J., Capozzi F., Bordoni A., Dupont D. 2016. <i>In vitro</i> digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. <i>Food Research International</i> , 88, 284-292. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.029
21	Rezzoug M., Bakchiche B., Gherib A., Elasri O. 2020. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Different Organic Extracts of Three Algerian Plants. <i>Journal of Drug Delivery and Therapeutics</i> , 10(2-s), 75-79. https://doi.org/10.22270/jddt.v10i2-s.4038

22	<p>Rezzoug M., Bakchiche B., Gherib A., Roberta A., Flamini G., Kilinçarslan Ö., Mammadov R., Bardaweel S. K. 2019. Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of <i>Ocimum basilicum</i> L. and <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. And Reut. From the Algerian Saharan Atlas. BMC Complementary and Alternative Medicine, 19 (1). https://doi.org/10.1186/s12906-019-2556-y</p>
23	<p>Righi N., Boumerfeg S., Fernandes P. A. R., Deghima A., Baali F., Coelho, E., Cardoso S. M., Coimbra M. A., Baghiani A. 2020. <i>Thymus algeriensis</i> Bioass and Reut : Relationship of phenolic compound composition with <i>in vitro/in vivo</i> antioxidant and antibacterial activity. Food Research International, 136, 19500. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109500</p>
24	<p>Rodríguez-Roque M. J., Rojas-Graü M. A., Elez-Martínez P., Martín-Belloso O. 2013. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion. Food Chemistry, 136 (1), 206-212. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.115</p>
25	<p>Siracusa L., Kulisic-Bilusic T., Politeo O., Krause I., Dejanovic B., Ruberto G. 2011. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Aqueous Infusions from <i>Capparis spinosa</i> L. and <i>Crithmum maritimum</i> L. before and after Submission to a Two-Step <i>in Vitro</i> Digestion Model. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59 (23), 12453-12459. http://dx.doi.org/10.1021/jf203096q</p>
26	<p>Sobeh M., Rezaq S., Cheurfa M., Abdelfattah M. A. O., Rashied R. M. H., El-Shazly A. M., Yasri A., Wink M., Mahmoud M. F. 2020. <i>Thymus algeriensis</i> and <i>Thymus fontanesii</i> : Chemical Composition, <i>In Vivo</i> Antiinflammatory, Pain Killing and Antipyretic Activities: A Comprehensive Comparison. Biomolecules, 10 (4), 599. http://dx.doi.org/10.3390/biom10040599</p>

27	Sultana B., Anwar F., Ashraf M. 2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. <i>Molecules</i> , 14 (6), 2167-2180. ESI/MSn and bioactive properties of <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. And Reut. and <i>Ephedra alata</i> Decne. <i>Food Research International</i> , 116, 312-319. https://doi:10.3390/molecules14062167
28	Ziani B. E. C., Heleno S. A., Bachari K., Dias M. I., Alves M. J., Barros L., Ferreira I. C. F. R. 2019. Phenolic compounds characterization by LC-DAD- ESI/MS ⁿ and bioactive properties of <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. And Reut. And <i>Ephedra alata</i> Decne. <i>Food Research International</i> , 116, 312-319. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.041

Annexe 2. Résultat de l'activité antioxydant *in vitro* de l'extrait brut de *Thymus algeriensis* (Righi *et al.*,2020).

		AAT (μg EAA/mg)	DPPH IC50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ABTS IC50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	B carotène (%)	Chélation des ions métalliques EC50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	FRAP (mMFeS O ₄ /mg)
(Righi <i>et al.</i> , 2020)	Extrait	268 \pm 4	7,4 \pm 3	207 \pm 3	90 \pm 2	512 \pm 0	5,3 \pm 0,0
	BHA	386 \pm 3	1,9 \pm 0,3	41 \pm 1	97 \pm 4	-----	16 \pm 0,0
	Acide gallique	722 \pm 16	0,5 \pm 0,0	59 \pm 4	72 \pm 5	-----	37 \pm 0,0
	Acide ascorbique	-----	141 \pm 0,5	58 \pm 0	-----	-----	19 \pm 0,0
	EDTA	-----				-----	23 \pm 1

AT : Activité antioxydant total ; EAA : équivalent d'acide ascorbique ;

BHA :butylhydroxyanisol

Annexe 3. Résultat de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait de *Thymus algeriensis* (Megdiche-ksouri *et al.*, 2015).

		AAT (mg EAG/g)	DPPH IC50 ($\mu\text{g/ml}$)	FRAP IC50 ($\mu\text{g/ml}$)
(Megdiche-ksouri <i>et al.</i> 2015)	Extrait	213,6 \pm 0,31	7 \pm 0,02	210 \pm 2,11
	BHT	-----	11,5 \pm 0,01	-----
	Vitamine C	-----	-----	37,33 \pm 0,20

Annexe 4. Résultat de l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait de *Thymus algeriensis* (Guessmi *et al.*, 2014).

			DPPH inhibition (%)	ABTS inhibition (%)	B-carotène inhibition (%)
Référence	Code	BHT	93 \pm 0,25	86 \pm 0,37	36 \pm 0,66
(Guessmi <i>et al.</i> , 2014)	Ta4	Extrait	93 \pm 0,06	75 \pm 0,72	31 \pm 0,91
	Ta5		84 \pm 0,034	50 \pm 0,96	25 \pm 0,08
	Ta6		81 \pm 0,26	22 \pm 0,9	50 \pm 0,12

BHT : Butyrate hydroxytoluene

ملخص

Thymus algeriensis المعروف بالاسم العام " زعيترة" هو نبات طبي من عائلة Lamiaceae، ويستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي الجزائري وكتوابل غذائية. في العمل الحالي، أجرينا التحليلات الكمية والنوعية لمستخلص الميثانول المائي. أظهر التقدير الكمي لمركبات الفلافونويد والبوليفينول الكلي بالطريقة اللونية أن المستخلص غني بهذه المركبات. يوضح تقييم قوة مضادات الأكسدة التي تم إجراؤها عن طريق الاختبارات المعملية (DPPH, ABTS, FRAP, blanchiment du β -carotène) أن نبات زعيترة له نشاط قوي مضاد للأكسدة بفضل وجود حمض الروزمارينيك الموجود كمركب رئيسي. أظهر هذا المركب سهولة الوصول الحيوية بشكل عام أثناء الهضم.

الكلمات المفتاحية: *Thymus algeriensis* ، البوليفينول ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة ، DPPH ، حمض الروزمارينيك ، التوافر البيولوجي.

Résumé

Thymus algeriensis connue sous le nom vernaculaire « Zhitra » est une plante médicinale de la famille des Lamiaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne et comme condiment alimentaire. Dans le présent travail, nous avons réalisés des analyses quantitatives et qualitatives de différents extraits de solvants. L'estimation quantitative des flavonoïdes et des polyphénols totaux par méthodes colorimétriques a montré que l'extrait est riche en ces composés. L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant les tests *in vitro* (DPPH, ABTS, FRAP et le blanchiment du β -carotène) montre que *Thymus algeriensis* a une puissante activité antioxydante grâce à la présence d'acide rosmarinique, présent comme composé principal. Ce composé a montré une bonne biodisponibilité globale pendant la digestion.

Mots clés : *Thymus algeriensis*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, l'acide rosmarinique, biodisponibilité.

Abstract

Thymus algeriensis known by the vernacular name « Zhitra » is a medicinal plant from the Lamiaceae family, widely used in traditional Algerian medicine and as a food condiment. In the present work, we performed quantitative and qualitative analysis of solvents extracts. The quantitative estimation of flavonoids and total polyphenols by colorimetric methods showed that the extract is rich in these compounds. The evaluation of the antioxidant activity using *in vitro* tests (DPPH, ABTS, FRAP and β -carotene bleaching) shows that *Thymus algeriensis* has a powerful antioxidant activity thanks to the presence of rosmarinic acid, present as the main compound. This compound showed overall good bio accessibility during the *in vitro* digestion.

Key words: *Thymus algeriensis*, polyphenols, flavonoids , antioxidant activity, DPPH, rosmarinic acid, bioavailability.