

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département sciences de la nature et de la vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Biologie
Domaine : Science de la nature et de la vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Thème

**Etude comparative de l'activité antioxydant de
l'extrait brut de *Thymus ciliatus* ssp *euciliatus* et la
ssp *coloratus*.**

Présenté Par :

Mr KHELOUFI Yasser

Devant le jury composé de :

Dr BENTABET Nesrine	M C A UAT.B.B (Ain Temouchent)	Présidente
Dr BRIXI GORMAT Nassima	M C B UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinatrice
Dr KHOLKHAL Fatima	M C B UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadreur

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mon encadrant, ***Mme Kholkhal Fatima***, pour son soutien, sa patience et ses conseils précieux tout au long de mon travail. Sa passion pour l'excellence et son engagement envers ma réussite ont été une source d'inspiration constante.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers ***Mme Brixi Gormat Nassima*** pour les années passées à mes côtés en tant qu'étudiant. Je n'oublierai jamais son sourire, son respect et son amour. Tout simplement vous étiez la meilleure enseignante qui m'a enseigné durant tout mon parcours universitaire. Votre présence a été un immense honneur pour moi.

A ***Mme Bentabet Nesrine***, merci d'avoir accepté de présider et d'examiner mon travail. Votre présence constitue pour moi un grand respect.

J'adresse également mes remerciements sincères à mes amis et collègues : ***Hascar Ferial***, ***Zenasni Meriem***, ***Aid Nour el Houda***, ***Bellouati Houari*** et ***smaine Houcine***. Leur soutien inconditionnel, leurs encouragements et leur collaboration m'ont donné la force et m'ont poussé à réaliser ce travail

Enfin, je souhaite à exprimer ma reconnaissance envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet. Vos encouragements et votre confiance ont été essentiels pour ma réussite.

Dédicace

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers **Dieu** de m'avoir accordé la volonté et la force nécessaires pour surmonter les difficultés rencontrées au cours de ces dernières années. Cela m'a permis d'obtenir des résultats exceptionnels, témoignant de mon engagement constant envers mes études, et apportant ainsi une immense joie et fierté à mes parents.

Je dédie le fruit de mes 18 ans d'études.

Et Je dédie ce modeste travail :

Aux personnes les plus chères au monde : **mon père** et **ma chère mère**.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance envers mon père et ma chère mère. Leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs sacrifices ont été des piliers essentiels dans mon parcours. Leur encouragement constant et leurs conseils avisés ont nourri ma détermination à persévérer malgré les obstacles. Je suis infiniment reconnaissant de les avoir à mes côtés, et je leur suis redevable pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon épanouissement.

J'ai la chance d'avoir des parents comme vous, que ce travail soit pour vous, que dieu vous protège, longue vie et bonheur éternel.

A mon grand frère **Mostapha**, Son impact positif dans ma vie est inestimable. Son soutien indéfectible, et sa guidance qui mon encouragement, Je vous souhaite tout le bonheur et la réussite dans le monde.

Enfin, à tous ceux qui savent donner sans recevoir, qui aident sans retour et sans être égoïste.

Résumé

Dans le cadre de la nutrition et de la santé, les antioxydants jouent un rôle essentiel. Et les composés phénoliques, présents dans de nombreux aliments, sont connus pour leurs propriétés bénéfiques. Les antioxydants agissent en neutralisant les radicaux libres, des molécules instables responsables du stress oxydatif dans le corps. Les composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, sont abondamment trouvés dans les fruits, les légumes, les grains entiers et les herbes. Ils offrent une protection contre les maladies cardiovasculaires, le cancer et d'autres affections liées au vieillissement.

Les composés antioxydants suscitent un grand intérêt de recherche en raison de leur utilisation potentielle en tant que conservateurs naturels dans les denrées alimentaires, en remplacement des antioxydants synthétiques. En outre, ces composés jouent un rôle crucial dans le traitement de diverses maladies.

Nous nous intéressons dans cette étude à l'analyse des composés phénoliques et à l'activité antioxydante de l'extrait brut de la partie aérienne de deux plantes aromatiques et médicinales: *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Ces plantes font partie de la famille des Lamiacées et sont présentes de manière spontanée et répandue en Algérie. Elles sont encore largement utilisées dans la médecine traditionnelle de nombreux pays, notamment en tant qu'antiseptiques et pour traiter les problèmes respiratoires.

Les extractions des extraits bruts de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* des deux ssp ont été réalisées par des méthodes d'extractions à l'aide de solvants spécifiques pour chaque extrait.

L'évaluation du pouvoir antioxydant par quatre techniques différentes à savoir la réduction du fer FRAP, le piégeage du radical libre DPPH, le piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et la méthode de décoloration du bêta-carotène chez tous les extraits et fractions, montre qu'il y a une certaine conformité entre les quatre techniques étudiées. En effet, l'extrait brut de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* ssp *euciliatus* présente une activité antioxydante plus prononcée que la ssp *coloratus*, par des études entre les quatre méthodes qui démontrent la supériorité de sous-espèce ssp *euciliatus*.

Mots clés : *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*, les composés phénoliques, activité antioxydante, DPPH, FRAP, β-carotène, H₂O₂.

Abstrat

In the context of nutrition and health, antioxidants play an essential role. And phenolic compound, which are present in many foods, are known for their beneficial properties. Antioxidants work by neutralizing free radicals, unstable molecules responsible for oxidative stress in the body. Phenolic compounds, such as flavonoids and phenolic acids, are abundantly found in fruits, vegetables, whole grains and herbs. They offer protection against cardiovascular diseases, cancer and other conditions related to aging.

Antioxidant compounds are of great research interest due to their potential use as natural preservatives in foodstuffs, replacing synthetic antioxidants. In addition, these compound play a crucial role in the treatment of various diseases.

In this study, we are interested in the analysis of phenolic compounds and the antioxidant activity of the crude extract of the aerial part of two aromatic and medicinal plants: *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* and ssp *euciliatus*. These plants are part of the Lamiaceae family and are present spontaneously and widely in Algeria. They are still widely used in traditional medicine in many countries, especially as antiseptics and to treat respiratory problems.

The extractions of the crude extracts of the aerial part of *Thymus ciliatus* from the two ssp were carried out by extraction methods using specific solvents for each extract.

The evaluation of the antioxidant power by four different techniques, namely the reduction of iron FRAP, the trapping of the free radical DPPH, the trapping of hydrogen peroxide (H₂O₂) and the method of decolorization of beta-carotene in all extracts and fractions, shows that there is a certain conformity between the four techniques studied. Indeed, the crude extract of the aerial part of *Thymus ciliatus* ssp *euciliatus* exhibits a more pronounced antioxidant activity than ssp *coloratus*, by studies between the four methods which demonstrate the superiority of subspecies ssp *euciliatus*.

Key words: *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* and ssp *euciliatus*, phenolic compounds, antioxidant activity, DPPH, FRAP, β -carotene, H₂O₂.

ملخص

في سياق التغذية والصحة ، تلعب مضادات الأكسدة دورا أساسيا. والمركبات الفينولية ، الموجودة في العديد من الأطعمة، معروفة بخصائصها المفيدة. تعمل مضادات الأكسدة عن طريق تحييد الجذور الحرة ، وهي جزيئات غير مستقرة مسؤولة عن الإجهاد التأكسدي في الجسم. توجد المركبات الفينولية ، مثل مركبات الفلافونويد والأحماض الفينولية ، بكثرة في الفواكه والخضروات والحبوب الكاملة والأعشاب. انها توفر الحماية ضد أمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان وغيرها من الحالات المتعلقة بالشيخوخة.

تعتبر المركبات المضادة للأكسدة ذات أهمية بحثية كبيرة بسبب استخدامها المحتمل كمواد حافظة طبيعية في المواد الغذائية، لتحل محل مضادات الأكسدة الاصطناعية. بالإضافة إلى ذلك، تلعب هذه المركبات دورا حاسما في علاج الأمراض المختلفة.

في هذه الدراسة ، نحن مهتمون بتحليل المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الخام للجزء الجوي من نباتين عطريين وطيبين: الغدة الصعترية الهدبية سب كولوراتوس و سب يوسيلاتوس. هذه النباتات هي جزء من عائلة اللامية وهي موجودة بشكل عفوي وعلى نطاق واسع في الجزائر. لا تزال تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في العديد من البلدان، وخاصة كمطهرات وعلاج مشاكل الجهاز التنفسي.

تم استخراج المستخلصات الخام للجزء الجوي من الغدة الصعترية الهدبية من النوعين الفرعيين عن طريق طرق الاستخراج باستخدام مذيبات محددة لكل مستخلص.

تقييم قوة مضادات الأكسدة من خلال أربع تقنيات مختلفة، وهي الحد من فراب الحديد ، ومحاصرة ديه الجذور الحرة ، ومحاصرة بيروكسيد الهيدروجين وطريقة إزالة اللون من بيتا كاروتين في جميع مقتطفات والكسور ، ويظهر أن هناك مطابقة معينة بين التقنيات الأربعة المدروسة. في الواقع ، فإن المستخلص الخام للجزء الجوي من الغدة الصعترية الهدبية سب يوسيلاتوس يظهر نشاط مضاد للأكسدة أكثر وضوحا من سب كولوراتوس ، من خلال الدراسات بين الطرق الأربعة التي تثبت تفوق سب يوسيلاتوس.

الكلمات الرئيسية: الغدة الصعترية الهدبية سب كولوراتوس و سب يوسيلاتوس ، المركبات الفينولية ، النشاط المضادة للأكسدة ، ديه، فراب، بيتا-كاروتين، ثاني أكسيد الكربون

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction Générale1

CHAPITRE 1: Les plantes Médicinales

1.1	Généralités des plantes médicinales.....	4
1.2	Domaine d'utilisations	5
1.3	Présentation de la famille Lamiace	6
1.4	Thym	7
1.4.1	Historique.....	7
1.4.2	Caractéristiques botaniques	8
1.4.2.1	Descreption.....	8
1.4.2.2	Classification	8
1.4.3	Répartition géographique.....	8
1.4.3.1	Dans le monde	8
1.4.3.2	En Algerie.....	9
1.4.4	Huile essentielle du thym.....	10
1.5	Thymol	11
1.5.1	Biosynthèse du thymol.....	11
1.5.2	Extraction de thymol.....	12
1.6	Description botanique du <i>Thymus ciliatus</i>	12
1.6.1	Sous-espèce <i>coloratus</i>	13
1.6.2	Sous-espèce <i>euciliatus</i>	14
1.7	Activités biologiques.....	14
1.8	Composition chimique	14

CHAPITRE 2: Les métabolismes secondaires

2.1	Les éléments actifs des plantes médicinales	16
2.2	Définition et fonctions des métabolites secondaires	16
2.3	Biosynthèse des métabolites secondaires	17
2.4	Classification des métabolites secondaires	17
2.4.1	Les composés phénoliques.....	18
2.4.1.1	Les principales classes des composés phénoliques	19
2.4.1.1.1	Acide phénolique.....	20
2.4.1.1.2	Les flavonoïdes.....	20

2.4.1.1.2.1	Structure et classification des flavonoïdes.....	20
2.4.1.1.3	Tanins	22
2.4.1.1.3.1	Les tanins condensés (non hydrolysables).....	22
2.4.1.1.3.2	Les tanins hydrolysables.....	22
2.4.1.1.4	Les anthocyanes.....	23
2.4.1.1.5	Coumarines.....	23
2.4.1.1.6	Les quinones.....	24
2.4.1.1.7	Effets biologiques des polyphénols	24
2.4.2	Les terpènes (les isoprénoïdes et Les terpénoïdes)	25
2.4.3	Les composés azotés (dérivés des acides aminés) Les Alcaloïdes	25
2.4.3.1	Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des alcaloïdes.....	26
Chapitre 3: Le stress oxydant		
3.1	Le stress oxydant.....	27
3.2	Les radicaux libres	27
3.3	Les marqueurs biologiques de stress oxydant	28
3.4	Les maladies liées au stress oxydatif.....	28
3.5	Alimentation et stress oxydant	29
Chapitre 4: Les Antioxydants		
4.1	Les antioxydants.....	30
4.1.1	Les antioxydants enzymatiques	30
4.1.2	Antioxydants non enzymatiques	31
4.2	Antioxydants d'origine végétale	31
4.3	Les antioxydants synthétiques.....	32
4.4	Evaluation in vitro de l'activité antioxydante	33
4.4.1	Introduction.....	33
4.4.2	Méthodes de piégeage des radicaux libres oxygénés.....	34
4.4.2.1	Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity)	34
4.4.2.2	Piégeage du radical 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•).....	34
4.4.2.3	Puissance antioxydante de réduction du fer (analyse FRAP)	35
4.4.2.4	Activité antioxydante par la méthode de coloration du béta-carotène.....	35
Chapitre 5: Etude comparative de l'activité antioxydant de l'extrait brut de thymus ciliatus ssp euciliatus et la ssp coloratus		
5.1	Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power).....	36
5.2	Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1- picrylhydrazyl)	36
5.3	Activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity)	37
5.4	Activité antioxydante par la méthode de décoloration du béta-carotène (β -carotene bleaching method).....	38
CONCLUSION GENERALE		39

Sommaire

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES	41
ANNEXES.....	47

Liste des abréviations

BHA : Butylhydroxyanisole.

BHT : Butylhydroxytoluène.

C ° : Degré celcius.

Fe: Fer.

Fe³⁺: Fer ferrique.

FRAP: Ferric reducing antioxydant power.

EBae : extrait brut de la partie aérienne.

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50% (Inhibitory Concentration of 50%).

I % : Pourcentage d'inhibition.

mg: milligramme.

ml : Millilitre.

mm : millimètre.

ROS : Reactive Oxygen Spices (espèces réactive de l'oxygène).

ssp : Sous espèce.

SOD : Superoxyde dismutase.

UV : Ultra violet.

HE : huile essentielle.

PM : plante medicinale.

Cm : centimètre.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

SOD : Superoxyde dismutase.

% : Pourcent.

CAT : catalase.

GR : la glutathion réductase.

GPx : la glutathion peroxydase.

Liste des abréviations

·OH : radicaux hydroxyles.

RO₂ : radicaux peroxyes.

TBHQ : tert-butylhydroxyquinone.

PG : gallate de propyle,

DG : gallate de dodécyle.

OG : l'octylgallate.

EDTA : Acide éthylène diaminetétraacétique.

HAT : transfert d'atome d'hydrogène.

SET : transfert d'électron unique.

SPLET : transfert séquentiel d'électron par perte de proton.

Liste des figures

Figure 1: Structures chimiques de (a) thymol et (b) carvacrol.	11
Figure 2: Voie de biosynthèse du monoterpènes phénoliques thymol et carvacrol.....	12
Figure 3: <i>Thymus ciliatus</i> (Desf.) Benth. De la région de Tlemcen..	13
Figure 4: <i>Thymus Ciliatus</i> coloratus ssp.	13
Figure 5: <i>Thymus Ciliatus</i> ssp euciliatus.	14
Figure 6: Biosynthèse des métabolites secondaires..	17
Figure 7: Répartition de différents métabolites secondaires des plantes.	18
Figure 8: structure du noyau phénol.	18
Figure 9: Structure d'une molécule de férulique.	20
Figure 10: Squelette de base du flavonoïde.	20
Figure 11: Structures chimiques du tanin hydrolysable (A) et des tanins non hydrolysables ou condensés (B).....	23
Figure 12: Structure chimique du squelette anthocyanidine avec numérotation des atomes et étiquette cyclique (R = H, OH).....	23
Figure 13: Structure du noyau coumarine.....	24
Figure 14: Structure des molécules de la quinone	24
Figure 15: Structure de l'isoprène de base et des différents types de terpènes	25
Figure 16: Structure de quelques alcaloïdes	26
Figure 17: Les différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	28
Figure 18: Structure phénolique des antioxydants synthétiques.	33

Liste des tableaux

Tableau 1: exploration des plantes médicinales.....	6
Tableau 2: la classification botanique du thym.....	8
Tableau 3: la répartition géographique des principales espèces du thym.....	9
Tableau 4:Composition chimique des huiles essentielles de <i>Thymus ciliatus</i>	15
Tableau 5:Principales classes des composés phénoliques	19
Tableau 6:Structure générique des principales classes de flavonoïdes.....	21
Tableau 7 : exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée.	30
Tableau 8: Cinétique de l'activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène d'extrait brut de la partie aérienne de la ssp coloratus	37
Tableau 9: Cinétique de l'activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène d'extrait brut de la partie aérienne de la ssp euciliatus.....	38

INTRODUCTION

GENERALE

De part sa situation géographique diversifiée, Les plantes médicinales sont largement utilisées en Algérie dans la médecine traditionnelle depuis des siècles. Allant des côtes méditerranéennes aux montagnes de l'Atlas, en passant par le Sahara, l'Algérie offre un écosystème unique et un habitat favorable à de nombreuses espèces végétales aux propriétés curatives.

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des milliers d'années pour traiter une grande variété des maladies et des troubles de santé. Aujourd'hui, l'utilisation des plantes médicinales continue d'être une partie importante de la médecine traditionnelle dans de nombreuses cultures à travers le monde. Il a été utilisé comme principale source des médicaments. Les plantes médicinales produisent des substrats importants pour leur adaptation et leurs défenses contre les facteurs environnementaux et, en même temps, sont utilisées pour la médecine traditionnelle et les additifs industriels.

Le terme « médecine traditionnelle » décrit la somme totale des connaissances, des compétences et des pratiques que des cultures autochtones et différentes ont utilisées au fil du temps pour préserver la santé et prévenir, diagnostiquer et traiter les maladies physiques et mentales (**OMS, 2022**).

La médecine traditionnelle gagne en popularité dans le monde entier, tant dans les pays en développement que dans les pays où la médecine moderne est prédominante. Les études scientifiques sur les connaissances ancestrales révèlent des découvertes naturelles bénéfiques pour l'évolution humaine.

Les propriétés médicinales et aromatiques du thym en ont fait l'un des genres les plus populaires au monde. Par ailleurs, ses huiles essentielles sont largement utilisées pour aromatiser et conserver plusieurs produits alimentaires (**Tagnaout et al., 2022**).

Les molécules antioxydantes naturelles sont essentielles pour protéger l'organisme contre les effets nocifs des radicaux libres. Les radicaux libres sont des molécules instables avec un électron célibataire, ce qui les rend hautement réactifs. Lorsque ces radicaux libres réagissent avec d'autres molécules, ils peuvent endommager les cellules et les tissus, tels que les protéines, les lipides et l'ADN, contribuant ainsi à l'apparition des diverses maladies et au processus de vieillissement. Ce qui entraîne un état de stress oxydatif.

Au cours des dernières années, l'impact des composés phytochimiques naturels dans les aliments qui peuvent fonctionner comme antioxydants dans le corps humain a suscité un intérêt considérable. Cet intérêt est né de la littérature populaire qui définit les oxydants

comme nocifs et les antioxydants comme l'antithèse et, par conséquent, sains. Alors, les antioxydants ont été utilisés comme conservateurs alimentaires, lubrifiants et stabilisants **(Raghavendhar et al., 2022)**.

Les antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxytoluène (BHT) utilisé dans l'industrie alimentaire pour la stabilisation des aliments ont des effets cancérigènes, Pour résoudre ces problèmes, l'utilisation des plantes médicinales aux propriétés antioxydantes et antimicrobiennes est l'une des approches les plus intéressantes à adopter. Récemment, les huiles essentielles ont fait l'objet d'une attention croissante en raison de leurs propriétés thérapeutiques, bénéfiques pour la santé, et généralement considérées comme sûres selon l'Agence américaine pour les produits alimentaires et médicamenteux **(Tagnaout et al., 2022)**.

La plupart des antioxydants isolés à partir des plantes sont des polyphénols. Dans cette famille, on retrouve une classe des métabolites secondaires reconnus responsables de ces nombreuses activités biologiques comme les flavonoïdes qui sont dotés d'activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-carcinogènes **(Ghedira, 2005)**.

Les plantes de *Thymus ciliatus* sont largement utilisées dans le monde entier et sont réputées pour leurs propriétés culinaires, médicinales et industrielles.

Notre étude se concentre spécifiquement sur les plantes appartenant à la famille des Lamiacées, à savoir *Thymus ciliatus* ssp *euciliatus* et ssp *coloratus*, ainsi que l'extrait brut de leurs parties aériennes, offrent une richesse d'avantages et d'applications. Le *Thymus ciliatus* ssp *euciliatus* se distingue par son arôme prononcé et ses propriétés aromatiques uniques, tandis que le *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* attire l'attention avec ses fleurs éclatantes et sa couleur vive. Les parties aériennes de ces plantes renferment une variété des composés bioactifs, tels que des huiles essentielles, des flavonoïdes et des polyphénols, qui présentent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. L'extrait brut de ces parties aériennes peut être utilisé dans divers domaines, tels que l'industrie cosmétique, l'aromathérapie et la phytothérapie, pour leurs effets bénéfiques sur la santé et leur utilisation en tant qu'agents naturels. En somme, les plantes de *Thymus ciliatus* ssp *euciliatus* et ssp *coloratus*, ainsi que leur extrait brut, représentent de précieuses ressources naturelles, apportant une combinaison unique des parfums, des couleurs et des bienfaits pour la santé.

Notre étude est structurée autour de quatre chapitres majeurs qui comprennent des synthèses bibliographiques :

- ◆ Le premier chapitre aborde les plantes médicinales de la famille des Lamiacées, en mettant notamment l'accent sur le thymol et leur huile essentielle. De plus, il offre une description botanique détaillée du *Thymus ciliatus*, dans un large contexte d'étude.
- ◆ Le deuxième chapitre explore les métabolismes secondaires, en se penchant sur leur classification (Les composés phénoliques) et leur importance dans le règne végétal.
- ◆ Le troisième chapitre se concentre sur le stress oxydant, en explorant les radicaux libres ainsi que les maladies qui y sont associées.
- ◆ Le quatrième chapitre se consacre à l'étude des antioxydants, en mettant en évidence leurs rôles dans la lutte contre le stress oxydant. Il examine également les différentes méthodes de piégeage des radicaux libres oxygénés, qui permettent d'évaluer l'activité antioxydante des composés présents dans l'organisme et les végétaux.
- ◆ Le cinquième chapitre spectacle l'étude comparative dans les deux plantes différentes de la *Thymus ciliatus* par l'extrait brut de partie aérienne et le BHA ou l'acide ascorbique dans quatre méthodes différentes.

Chapitre 1

Les plantes

Médicinales

1.1 Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont considérées comme une activité pharmaceutique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments). Toujours été utilisées par les populations du monde entier pour se soigner ou prévenir des maladies, Les plantes médicinales sont une source importante des médicaments efficaces dans la thérapie de diverses maladies, en particulier en médecine traditionnelle. Différentes parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle, notamment les écorces, les fleurs, les fruits, les feuilles, les résines, les rhizomes, les racines, les graines et les tiges (**Alqethami et Aldhebiani, 2020**).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré que 80 % des pays en développement bénéficient encore de l'utilisation des médicaments traditionnels dérivés des plantes médicinales, Plus de 100 pays ont élaboré des réglementations pour les plantes médicinales. Il existe plus de 1 340 plantes ayant une activité antimicrobienne définie et plus de 30 000 composés antimicrobiens ont été isolés à partir des plantes (**Vaou et al., 2021**).

La phytothérapie fait actuellement l'objet d'une attention considérable en tant qu'alternative à la chimiothérapie dans le contrôle des maladies parasitaires, et les produits naturels à base des plantes sont devenus une source clé de nouveaux médicaments au cours des dernières années (**Nuria et al., 2017**).

Les plantes médicinales ont toujours joué un rôle important dans l'histoire de la santé humaine, elle se distingue par son utilisation en pharmacie humaine et vétérinaire est plus diversifiée en fonction des facteurs environnementaux et climatiques, où l'utilisation des plantes médicinales est restée importante, la médecine traditionnelle est souvent la seule option de traitement abordable et accessible pour les communautés qui n'ont pas accès aux médicaments modernes.

Elles ont évolué de manière empirique au fil des expériences qui se sont succédé Pendant des siècles, et ont évolué différemment en fonction des zones géographiques.

L'Algérie est un pays riche et bien connu en termes des plantes médicinales et possède une vaste zone des diverses régions côtières et des régions intérieures (semi-désertiques), spontanées et cultivées, à intérêt odonto-stomatologique, la pression artérielle, diabète et plusieurs des maladies. Les cinq principales familles botaniques sont les Lamiaceae, les Rosaceae, les Asteraceae, les Fabaceae et les Fagaceae. Sur le plan de l'abondance, 87% des espèces sont communes en Algérie, et 13% y sont rares, ces plantes se localisent

majoritairement dans des zones importantes, deux seulement en zones humides et une dernière en zone littorale (**Kazi Tani et Dali Yahia, 2020**).

Les composés végétaux sont des composés bioactifs présents naturellement dans les plantes. Ces substances végétales sont souvent divisées en métabolites primaires et secondaires (**Alqethami et Aldhebiani, 2020**).

1.2 Domaine d'utilisations

Les plantes ont été utilisées par les populations du monde depuis l'Antiquité dans la médecine traditionnelle et alternative et dans plusieurs domaines comme « la médecine, la nutrition, cosmétique... ». Des milliers d'années, les plantes ont été utilisées depuis des fins thérapeutiques dans le monde entier et continuent de fournir certains des meilleurs médicaments à l'humanité. Sur un total de 422 000 plantes à fleurs signalées dans le monde, plus de 50 000 sont utilisées à des fins médicinales (**Sanjay Kr et al., 2006**).

Les plantes sont utilisés à jusqu'à maintenant sous forme décoctions et d'infusions.

L'utilisation de la busserole (*Arctostaphylos ura-ursi*) et du jus de canneberge (*Vaccinium macrocarpon*) pour traiter les infections des voies urinaires (**Vaou et al., 2021**).

Dans le tableau suivant présenté quelques plantes médicinales, leurs parties utilisées et usage thérapeutique.

Tableau 1 : exploration des plantes médicinales (Aftab et Khalid, 2021).

Nom de la plante	Famille	Pièce utilisée	Usage thérapeutique
Cléome rutidosperma	Cléomacées	Feuilles	Analgésique et anti-inflammatoire
Eupatorium odoratum	Astéracées	Racine	Troubles hémorragiques, appendicite
Evodia lepta	Rutacées	Racine	Asthme
Ocimum sanctum	Lamiacées	Feuilles, tige, graines, fleur, racine	Anticancéreuse, antidiabétique, antifongique, hépatoprotectrice, cardioprotectrice, antalgique, antispasmodique

1.3 Présentation de la famille Lamiace

Les Lamiaceae (anciennement Labiate, la famille de la menthe) sont une famille cosmopolite et commercialement importante des plantes à fleurs comprenant. Elle comprend environ 250 genres et 7825 espèces. Les genres les plus grands et les plus connus sont *Salvia* L. (900 spp.), *Scutellaria* L. (360 spp.), *Stachys* L. (300 spp.), *Thymus* L. (220 spp.) et *Nepeta* L. (200 espèces) (Ryan D et Ben-Erik, 2021).

Les Lamiaceae sont l'une des familles les plus avancées en termes de structures florales, caractérisées par une tige quadrangulaire généralement odorante, ainsi que des feuilles opposées et souvent dépourvues de stipules. Ce sont des plantes qui ont été utilisées dans le monde entier pour leurs propriétés médicinales et leurs applications industrielles. Avec une longue histoire d'utilisation, de nombreuses espèces de cette famille sont couramment utilisées dans la médecine traditionnelle et les industries modernes. Les plantes de la famille des Lamiacées sont précieuses pour les industries cosmétiques, culinaires et pharmaceutiques en raison de leur capacité à produire des huiles volatiles aromatiques.

La famille des Lamiacée se caractérise par une diversité des produits secondaires, notamment les huiles essentielles produites dans des structures glandulaires externes sur les parties aériennes de la plante qui caractérisent les plantes bien connues du basilic (*Ocimum*), lavande (*Lavandula*), menthe (*Mentha*), thym (*Thymus*), sauge (*Salvia*) et genres apparentés (**Nazar et al., 2022**). Qui sont répartis dans les régions chaudes et tempérées du monde entier, ils peuvent s'adapter à différents écosystèmes et être cultivés facilement, mais sans habiter les régions les plus froides d'altitude ou de haute latitude (**Aitfella Lahlou et al., 2022**).

Il existe six classes principales des métabolismes secondaires trouvés dans les Lamiacées, à savoir : les acides caféoylquiniques et autres acides phénoliques, les flavonoïdes, les iridoïdes, les lignanes, les terpénoïdes non volatils et les glycosides phénylétanoïdes (**Ryan D et Ben-Erik, 2021**).

1.4 Thym

1.4.1 Historique

Le mot *Thymus* vient du grec " thyo " ou « Thymos », qui signifie " offrande " (à brûler) et " parfum " en raison de l'odeur agréable que la plante dégage naturellement lorsqu'elle est brûlée, dans l'Antiquité, les Sumériens et les Égyptiens l'utilisaient pour embaumer leurs morts (le processus de momification). Les Romains brûlaient du thym pour purifier l'air et éloigner les nuisibles (**Aitfella Lahlou et al., 2022**). Le genre *Thymus* est considéré comme l'un des huit genres les plus importants de la famille des Lamiacées comprenant environ 215 espèces, originaires du bassin méditerranéen. Les propriétés médicinales et aromatiques du thym en ont fait l'un des genres les plus populaires au monde (**Tagnaout et al., 2022**). Les espèces de thym comptent parmi les cultures médicinales et aromatiques les plus importantes dans les environnements non tropicaux. Les usages médicaux et non médicaux de ces plantes sont principalement liés à leurs extraits volatils. Les extraits sont largement utilisés pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, respiratoires et cutanés, et leur utilisation est réglementée par certaines entités et agences, telles que l'Agence européenne des médicaments, la Coopérative scientifique européenne sur la phytothérapie, la Commission allemande et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (**Mariana Roxo et al., 2020**).

1.4.2 Caractéristiques botaniques

1.4.2.1 Description

Les espèces de *Thymus* peuvent être des sous-arbustes ou des arbustes, souvent herbacés au-dessus, généralement gynodioïques et aromatiques. Ils poussent spontanément sur les pentes sèches et rocheuses et dans la garrigue. Les tiges des espèces sont généralement quadrangulaires, poilues tout autour, sur deux côtés opposés, ou seulement sur les coins. Les feuilles sont petites, entières et fréquemment révolutes et forment des touffes compactes très ramifiées qui s'élèvent à environ 20 cm au-dessus du sol. Elles présentent des inflorescences de verticilles formant un thyrses terminal, condensé, souvent spiciforme ou interrompu. Ces caractéristiques peuvent avoir un haut degré de polymorphisme, démontrant la complexité du genre *Thymus* d'un point de vue taxonomique et systématique (Aitfella Lahlou et al., 2022).

1.4.2.2 Classification

On va présenter la classification botanique du thym par le tableau suivant :

Tableau 2 : la classification botanique du thym (TOUHAMI, 2017).

Règne	Plante (végétal)
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Métachlamydées (gamopétales)
Ordre	Tubiflorales
Sous ordre	Verbéninées
Famille	Labiacées (labiées)
Genre	<i>Thymus</i>

1.4.3 Répartition géographique

1.4.3.1 Dans le monde

C'est une plante médicinale vivace cultivée à l'état sauvage dans différentes régions du monde. Les régions méditerranéennes ont été considérées comme l'origine de cette plante (Sarfaraz et al., 2021). Le thym préfère les conditions climatiques favorables à sa végétation,

qui se trouve principalement sur le littoral méditerranéen qui est des plantes héliophiles aimant le soleil. En conséquence, on le trouve principalement dans cette région. Ce genre *Thymus* comprend entre 250 et 350 espèces, sous-espèces et variétés des plantes sauvages, Les espèces de thym sont réparties entre l'Europe, l'Asie occidentale et la Méditerranée. Ils sont répandus en Afrique du Nord-Ouest (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), ils poussent également sur les montagnes d'Éthiopie et du sud-ouest de l'Arabie saoudite à travers la péninsule du Sinaï en Égypte (Drioiche et al., 2022).

1.4.3.2 En Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales, au regard de sa superficie et de sa diversité bioclimatique. Le genre *Thymus* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Ghomari F.N et al., 2014).

Dans le tableau suivant présenté sa répartition géographique des principales espèces du thym.

Tableau 3 : la répartition géographique des principales espèces du thym (Saidj Faiza, 2007).

Espèces	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen	Zaâteure
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie	Zaâteure
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran	–
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne, Tell constantinois	Tizaatarte
		Rare dans le sous secteur des Hauts	

<i>Thymus guyonii</i>	Noé	plateaux Algérois, Oranais et constantinois	–
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans : Le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous secteur des Hauts plateaux algérois, Oranais (Tiaret) et constantinois	Zaâteur
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de l'Atlas Saharien et constantinois	Tizerdite
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral	Djertil Hamrya

1.4.4 Huile essentielle du thym

Les huiles essentielles produites par différentes espèces végétales sont dans de nombreux cas biologiquement actifs. Le thym possède des propriétés carminatives, antispasmodiques, antitussives, expectorantes, sécrétomotrices, bactéricides, vermifuges et astringentes (Rasooli et al., 2006).

De nombreuses études ont été menées sur les espèces de thym pour identifier leur composition chimique. Une grande variété des composés chimiques ainsi que des huiles essentielles constituent la composition principale du thym qui varie selon le climat et la zone géographique (Hammoudi Halat et al., 2022).

Les principaux composants des huiles essentielles de *Thymus* est le thymol et le carvacrol (Minju Kim et al., 2022).

1.5 Thymol

Le thymol est un composant phénolique important principalement responsable de l'activité antioxydante du thym (Hammoudi Halat et al., 2022). Le thymol (C₁₀H₁₄O) est un monoterpène présent dans de nombreuses huiles végétales. Le thymol est un composé phénolique naturel connu sous le nom de 2-isopropyl-5-méthylphénol et est un phénol monoterpène cristallin incolore, avec le carvacrol (C₁₀H₁₄O) 5-isopropyl-2-méthylphénol. Depuis des siècles, il est utilisé en médecine traditionnelle et il a été démontré qu'il possède diverses propriétés pharmacologiques, notamment des activités antioxydants, anti-inflammatoires, antibactériennes, analgésiques, antispasmodiques, antifongiques, antiseptiques et antitumorales. Aussi, le thymol possède des multiples effets thérapeutiques contre diverses maladies cardiovasculaires, gastro-intestinales, neurologiques, rhumatologiques, métaboliques et malignes (Gholami-Ahangaran et al., 2022).

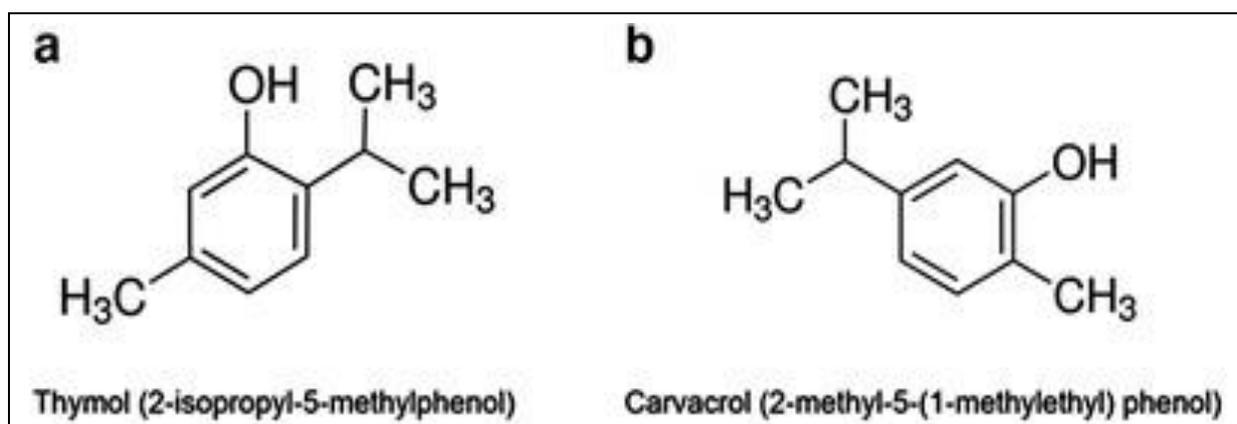


Figure 1 : Structures chimiques de (a) thymol et (b) carvacrol (Gholami-Ahangaran et al., 2022).

1.5.1 Biosynthèse du thymol

La voie biosynthétique du thymol commence par la formation de γ -terpinène à partir de diphosphate de géranyle. Suivie d'une série d'oxydations via p-cymène. Ensuite, Des terpènes synthases formant du γ -terpinène, le γ -terpinène est oxydé par les monooxygénases du cytochrome P450 (P450) de la sous-famille CYP71D pour produire des intermédiaires cyclohexadiénols instables, qui sont ensuite déshydrogénés par une déshydrogénase/réductase (SDR) à chaîne courte en cétones correspondantes.

La plupart des monoterpènes sont biosynthétisés par fusion des intermédiaires en C 5 omniprésents, l'isopentényl diphosphate, et de son isomère diméthylallyl diphosphate, ce qui entraîne la formation d'un composé en C 10, le géranyl diphosphate (GDP). Des études avec du γ -terpinène marqué au ^3H ont montré que ce composé était converti en thymol et en carvacrol après incubation avec de jeunes feuilles de thym.

L'expression de la γ -terpinène synthase OvTPS2 s'est avérée corrélée avec la teneur en thymol et en carvacrol des feuilles. Au-delà du γ -terpinène, cependant, aucun autre précurseur de monoterpènes phénoliques n'a été identifié. L'hydrocarbure aromatique p -cymène a été suggéré comme intermédiaire dans la formation de thymol et de carvacrol à partir de γ -terpinène (Sandra et al., 2021).

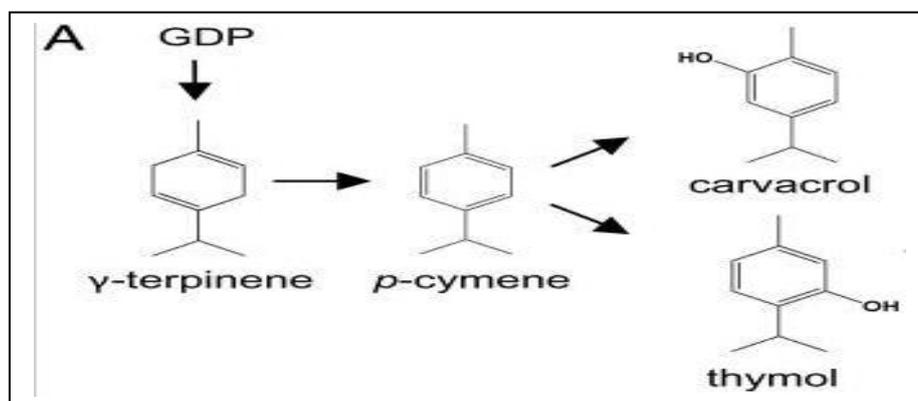


Figure 2 : Voie de biosynthèse du monoterpènes phénoliques thymol et carvacrol (Sandra et al., 2021).

1.5.2 Extraction de thymol

Le thymol, isolé par cristallisation sous l'action du froid ou par traitement de l'huile essentielle de thym avec une solution de soude caustique, provoque l'élimination des hydrocarbures formant la couche de verseur et, la solution inférieure contenant le thymolate de sodium ($\text{C}_{10}\text{H}_{23}\text{ONa}$) est neutralisée avec l'acide chlorhydrique. Le thymol vient surnager à la surface de liqueur et est recueilli par décantation ou en utilisant un dissolvant approprié suivie d'une recristallisation alcoolique (Pauli et Knobloch, 1987).

1.6 Description botanique du *Thymus ciliatus*

Les espèces de *Thymus* (famille des Lamiacées) possèdent des activités pharmacologiques et biologiques importantes. La plupart des activités biologiques des espèces de *Thymus* sont liées à leurs principaux constituants, à savoir le thymol et le carvacrol. Douze espèces sont réparties en Algérie, dont neuf endémiques. Le *Thymus ciliatus* Desf. (Arabe

'Zaatar'), qui est utilisé dans la région des Aurès (est algérien) comme remède populaire contre la bronchite, l'infection pulmonaire, la grippe, la toux et certains troubles gastro-intestinaux (**Kabouchea et al., 2009**).

Thymus ciliatus (Desf.) Benth. Est un arbrisseau de petite taille, mais pouvant former des touffes bien étalées sur le sol, les feuilles florales sont différentes des feuilles caulinaires, en général fortement dilatées à leur portion inférieure. Rencontrée dans les broussailles, matorrals, sur substrats calcaires et siliceux et sur sols rocailleux et bien drainés (**Amarti et al., 2010**).



Figure 3 : *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. De la région de Tlemcen (**Choukri Tefiani, 2015**).

1.6.1 Sous-espèce *coloratus*

La sous-espèce *coloratus* se présente sous la forme d'un sous-arbrisseau ramifié avec un capitule dense et volumineux, ainsi que des feuilles florales tachetées de pourpre au moins à leur base. Les fleurs ne mesurent pas plus de 7 à 8 mm et sont généralement de couleur plus pâle (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure 4 : *Thymus Ciliatus* ssp *coloratus* (**KHOLKHAL, 2014**).

1.6.2 Sous-espèce *euciliatus*

La sous-espèce *euciliatus* se caractérise par des fleurs d'une taille remarquable, de couleur rouge ou violacée, qui peut dépasser 1 cm de longueur. Les feuilles sont de forme linéaire avec des bords ciliés, tandis que les feuilles florales sont ovales et vertes (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure 5 : *Thymus Ciliatus* ssp *euciliatus* (**KHOLKHAL, 2014**).

1.7 Activités biologiques

En médecine traditionnelle, les feuilles et les parties florales des *Thymus* espèces sont largement utilisées comme thé tonique, antiseptique, antitussif, expectorant et carminatif, ainsi que pour le traitement du rhume. Le thym possède de nombreuses activités biologiques : antispasmodique, antimicrobienne, antioxydante, antiplaquettaire, antalgique et anti-inflammatoire (**Drioiche et al., 2022**). Ils ont des applications potentielles dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques en raison de leurs avantages biologiques et médicinaux. Ils sont largement utilisés dans la fabrication de parfums, de produits pharmaceutiques et d'articles de toilette (**Andrea F et al., 2017**).

1.8 Composition chimique

Le thym est riche en phytonutriments, minéraux et vitamines. Il a un goût piquant, mais est riche en humidité, en protéines, en fibres brutes. Sa composition chimique peut varier selon l'emplacement géographique. Il est principalement composé de flavonoïdes et d'antioxydants (**Hammoudi Halat et al., 2022**).

La lutéoline et la 6-hydroxylutéoline sont des chémomarqueurs des espèces *Thymus*, la thymusine (5,6- dihydroxy-7, 8,4'-triméthoxyflavone) est aussi caractéristique de cette sous-famille. L'huile essentielle de *Thymus ciliatus* est composée principalement de thymol, de β -E-ocimène et d' α -terpinène accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : linalol, δ -3-carène, 1,8-cinéole et carvacrol (**Benabid A, 2000**).

Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* (Sadou Nina et al., 2016).

Composés	RT (min)	végétative	Floraison	Post-floraison
acide sovalérique	4.36	0.02	0.02	0.05
α -thujène	9.84	0.78	0.45	0.88
α -pinène	10.24	1.41	1.63	5.18
Camphène	11.05	0.56	0.31	0.62
Verbène	11.39	-	-	0.05
β -pinène	12.75	0.19	0.15	0.26
β -myrcène	13.70	0.85	0.7	1.22
3-octanol	14.102	0.22	0.24	0.22
α -phellandrène	14.57	0.16	0.09	0.19
3-carène	14.96	0.04	0.03	0.06
α -terpinène	15.46	1.08	0.63	1.42
p-cymène	16.17	8.25	8.45	8.71
Limonène	16.32	0.5	0.68	1.07
Terpinène-4-ol	26.82	1.55	2.41	1.03

Chapitre 2

Les métabolismes

Secondaires

2.1 Les éléments actifs des plantes médicinales

Les plantes est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse des principes actifs les plus divers, elles sont des usines chimiques complexes qui fabriquent une myriade des composés structurellement divers appelés «métabolites secondaires», qui ne sont pas vitaux pour le développement et la croissance normaux des plantes, mais qui sont cruciaux pour la survie des plantes dans leurs divers environnements, les plantes ont développé des mécanismes de défense alternatifs sophistiqués et alambiqués qui utilisent une large gamme des métabolites secondaires comme outil pour lutter contre les environnements stressants (**Pandey et al., 2023**).

2.2 Définition et fonctions des métabolites secondaires

Sur la base des prés requis biologiques du règne végétal, les composés bioactifs naturels peuvent être généralement classés en métabolites primaires et métabolites secondaires. Les voies métaboliques primaires, par exemple le cycle de Calvin, la glycolyse, le cycle de Krebs et la photosynthèse, chez les plantes synthétisent les métabolites primaires principalement des glucides, des lipides, des acides aminés, des protéines et des acides nucléiques à l'aide de chlorophylles. Avec le métabolisme secondaire, les plantes médicinales récoltent une large gamme des petits principes actifs spéciaux des métabolites secondaires qui ne constituent pas le squelette moléculaire de la plante mais jouent un rôle particulier dans le métabolisme de la plante, y compris les fonctions défensives et d'autodéfense des plantes en interagissant avec les écosystèmes, structures spécialisées, et en reproduction (**Aftab et Khalid, 2021**).

En raison de leur nature sessile, les plantes ont développé une gamme des mécanismes de défense contre les stress biotiques et abiotiques. L'un de ces mécanismes comprend l'initiation des réponses adaptatives, telles que l'activation des métabolites secondaires ou des composés phytochimiques spécialisés. Les plantes produisent deux types des métabolites ; les métabolites primaires sont impliqués dans la survie et la propagation cellulaires, et les métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans la défense contre les agents pathogènes et les ravageurs. Les plantes synthétisent plus de 300 000 métabolites secondaires, et l'inhibition ou le silence de leur synthèse nuit gravement à leur efficacité à résister aux stress biotiques (**Ninkuu et al., 2021**).

Les métabolites secondaires sont classés en trois groupes, les composés phénoliques, les terpénoïdes et les composés azotés (Les alcaloïdes) (**Pandey et al., 2023**).

2.3 Biosynthèse des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mevalonate et du pyruvate. (Verpoorte R *et al.*, 2000).

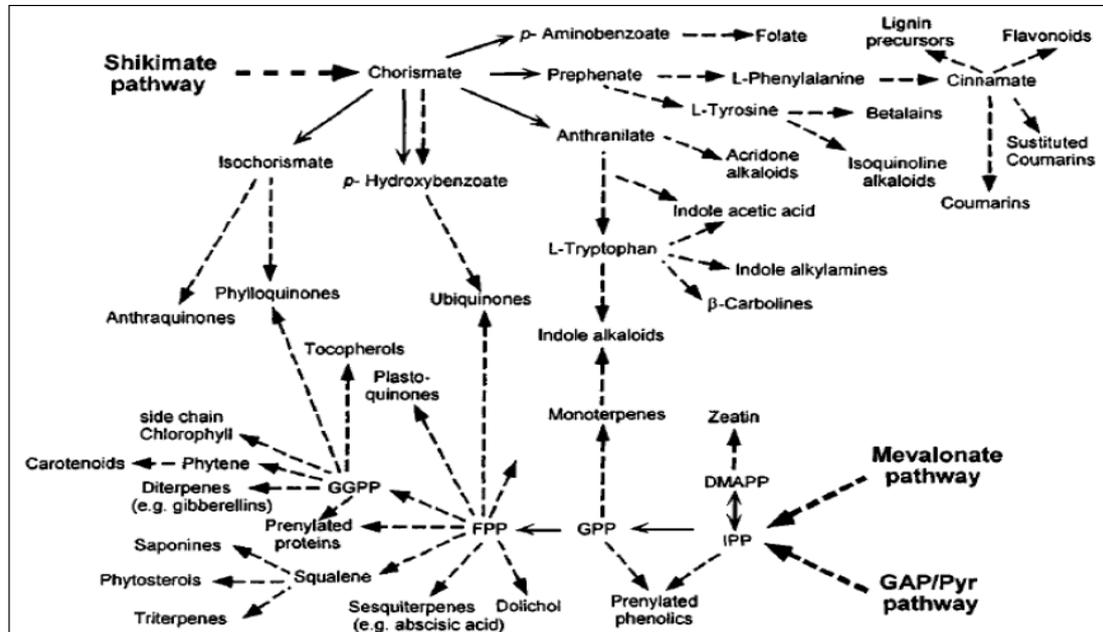


Figure 6 : Biosynthèse des métabolites secondaires (Verpoorte R *et al.*, 2000).

2.4 Classification des métabolites secondaires

Les plantes sont capables de produire plus de 200 000 produits naturels distincts pour des fonctions spécialisées liées à la défense et la reproduction. Plusieurs de ces produits chimiques ont une grande valeur pour l'homme en tant que produits pharmaceutiques, nutraceutiques, colorants, arômes et parfums, ce qui en fait des cibles pour l'ingénierie métabolique (Meng-Ling Shih et John A. Morgan, 2020).

Il existe trois grandes catégories des métabolites secondaires végétaux en tant que produits naturels ; terpènes et terpénoïdes (~ 25 000 types), alcaloïdes (~ 12 000 types) et composés phénoliques (~ 8 000 types) (Zwenger et Chhandak, 2008).

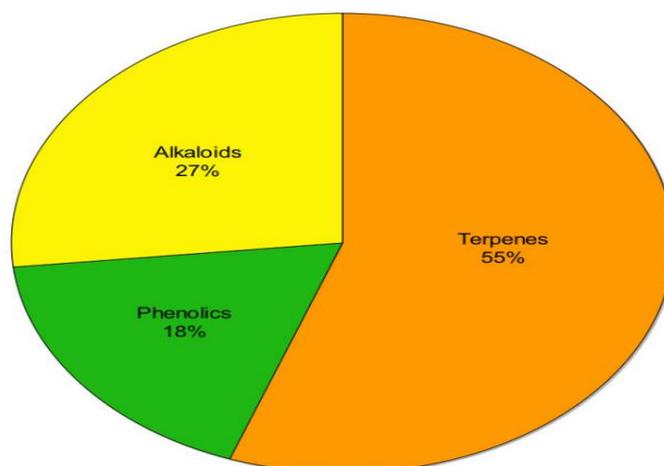


Figure 7 : Répartition de différents métabolites secondaires des plantes (**Zwenger et Chhandak, 2008**).

2.4.1 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, les phénols ou les polyphénols (ou extraits de polyphénols) sont des composants chimiques omniprésents dans le règne végétal en tant que pigments de couleur naturels responsables de la couleur des fruits des plantes. Ils sont très importants pour les plantes et ont plusieurs fonctions, le rôle le plus important peut être dans la défense des plantes contre les agents pathogènes et les prédateurs herbivores et sont donc appliqués dans le contrôle des infections pathogènes humaines (**Aftab et Khalid, 2021**). Ce sont des métabolites secondaires synthétisés par les voies de l'acide shikimique et des phénylpropanoïdes (**Laura A et al., 2019**).

Les composés phénoliques sont divers, regroupant un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, elles comprennent les flavones, les flavanols, les flavonoïdes, les quinones et les tanins, ces composés ont montré divers mécanismes d'action contre différentes souches microbiennes (**Vaou et al., 2021**).

Le phénol est un noyau benzénique substitué par un groupe hydroxyle, également appelé hydroxybenzène (**Figure 8**) (**Al Mamari, 2021**).

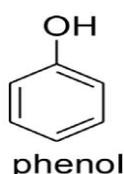


Figure 8 : structure du noyau phénol (**Al Mamari, 2021**).

2.4.1.1 Les principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être classés de différentes manières car ils sont constitués d'un grand nombre de structures hétérogènes allant des molécules simples aux composés hautement polymérisés. Selon leur chaîne carbonée, les composés phénoliques peuvent être divisés en 16 grandes classes (**Lourdes Reis Giada, 2013**). Le tableau présent les différentes classes des composés phénoliques et les plantes dans lesquelles ils se trouvent.

Tableau 5 : Principales classes des composés phénoliques (**KHOLKHAL, 2014**).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples	Plantes
6	C6	Phénols simples	Cathécol, hydroquinone	Busserole
7	C6-C1	Acides phénols Benzoïques	Ac. gallique, Ac. salysalique, vanilline	Artichaut Saule
8	C6-C2	Acétophénones	3-acétyl6- méthoxybenzaldehyde	Saule
9	C6-C3	Acides phénols Cinnamiques	Ac. coumarique, Ac.caféique	Romarin Marronnier d'inde
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine	Drosera spp
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline, mangocline	Racine de gentiane, Centauree
14	C6-C2-C6	Stiblènes	Hydrangéol,,Pinosylvine	Raisin, pin
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, Roténoïde	Ginkgo Thym Camomille
18	(C6-C3)2	Lignanes	Matairésinol	Chardon
30	(C6-C3-C6)2	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, Hinokiflavone	Carcinia Hypericum
N	(C6-C3-C6)n	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitanins	Marronnier d'inde, vigne

2.4.1.1.1 Acide phénolique

Les acides phénoliques comprennent deux sous-groupes, à savoir les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique (Sun et shahrajabian, 2023).

Les acides hydroxycinnamiques sont plus courants que les acides hydroxybenzoïques et consistent principalement en acides *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique (Pandey et Rizvi, 2009).

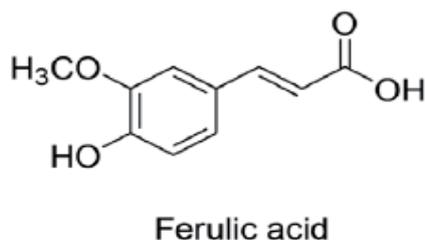


Figure 9 : Structure d'une molécule de férulique (Al Mamari, 2021).

2.4.1.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes, antivirales et anti-inflammatoires (Vaou et al., 2021). Plus de 4 000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées, dont beaucoup sont responsables des couleurs attrayantes des fleurs, des fruits et des feuilles (Pandey et Rizvi, 2009).

Les flavonoïdes les plus courants trouvés dans la nature sont les anthocyanes, les flavones, les flavanones, les flavonols, les flavanonols, les isoflavones et d'autres sous-classes (Sun et shahrajabian, 2023).

2.4.1.1.2.1 Structure et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont la structure générale d'un squelette à 15 carbones constitué de deux cycles aromatiques (A et B) reliés par une unité à trois carbones formant ou non un troisième cycle (C). Par conséquent, leur structure est également appelée C6-C3-C6 (Figure 10) (Aftab et Khalid, 2021).

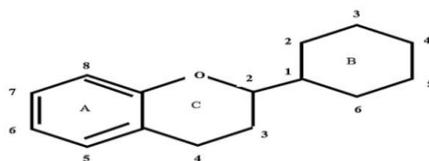


Figure 10 : Squelette de base du flavonoïde (Aftab et Khalid, 2021).

Les principales classes des flavonoïdes sont mentionnées dans le tableau suivant : (flavones, flavonols et flavanones...). Chacune de ces classes des flavonoïdes présente des propriétés uniques et est associée à différents avantages pour la santé, tels que des effets antioxydants, anti-inflammatoires et cardio-protecteurs.

Tableau 6 : Structure générique des principales classes de flavonoïdes (Sun et shahrajabian, 2023).

Flavonoïdes		Formule moléculaire
Flavones	Apigénine	$C_{15}H_{10}O_5$
	Lutéoline	$C_{15}H_{10}O_6$
	Chrysin	$C_{15}H_{10}O_4$
Flavonols	Kaempférol	$C_{15}H_{10}O_6$
	Quercétine	$C_{15}H_{10}O_7$
	Isorhamnetine	$C_{16}H_{12}O_7$
Flavanones	Naringénine	$C_{15}H_{12}O_5$
	Ériodictyol	$C_{15}H_{12}O_6$
	Hesperétine	$C_{16}H_{14}O_6$
Flavanols		$C_{15}H_{14}O_2$
Anthocyanidine		$C_{15}H_{11}O^+$
Flavanonols	Taxifoline	$C_{15}H_{12}O_7$
	Aromadendrine	$C_{15}H_{12}O_6$
Flavan-3-ols	Gallocatechine	$C_{15}H_{14}O_7$
	Catéchine	$C_{15}H_{14}O_6$
Isoflavones	Génistéine	$C_{15}H_{10}O_5$
	Daidzéine	$C_{15}H_{10}O_4$
	Formononétine	$C_{16}H_{12}O_4$

2.4.1.1.3 Les tanins

Les tanins sont des polyphénols qui ont la capacité de précipiter les protéines. Ces composés sont utilisés depuis des décennies pour transformer les peaux brutes d'animaux en cuir (**Rehab A et al., 2018**). Elles sont des composés phénoliques de poids moléculaire intermédiaire à élevé (500-3000 D) et peuvent être classés en deux grands groupes : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables ou condensés. Il existe un troisième groupe de tanins, les phlorotanins, que l'on ne trouve que dans les algues brunes et qui ne sont pas couramment consommés par l'homme (**Lourdes Reis Giada, 2013**).

2.4.1.1.3.1 Les tanins condensés (non hydrolysables)

Les tanins condensés, ou proanthocyanidines, sont des composés dont les structures sont basées sur des précurseurs de flavonoïdes oligomères et varient dans le type de liaisons entre les unités flavonoïdes ; modèles d'hydroxylation; la stéréochimie des carbones 2, 3 et 4 du cycle pyranne et la présence de substituant supplémentaires (**Rehab A et al., 2018**). Ils sont des polymères formés à partir de deux ou plusieurs molécules catéchétiques appelées flavan-3-ol ou flavan-3,4-diols dits leucoanthocyanes. Ils peuvent aussi résulter de l'union de ces deux types de molécules (**Bentrad, Hamida-Ferhat, 2020**).

2.4.1.1.3.2 Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables ont un centre de glucose ou d'un alcool polyhydrique partiellement ou totalement estérifié avec de l'acide gallique ou de l'acide hexahydroxydiphénique, formant respectivement des gallotanins et des ellagitanins, ces métabolites sont facilement hydrolysés avec des acides, des bases ou des enzymes (**Lourdes Reis Giada, 2013**).

Les tanins hydrolysables sont des esters d'acide gallique liés à un noyau de sucre, généralement du glucose (HT de type 1 ou gallotannins) ou des esters d'acide ellagique, également liés à un noyau de sucre (types II-IV, qui comprennent l'ellagitanin, le déhydroellagitanin et le déhydroellagitanin transformé par oxydation) (**Harley et al., 2013**).

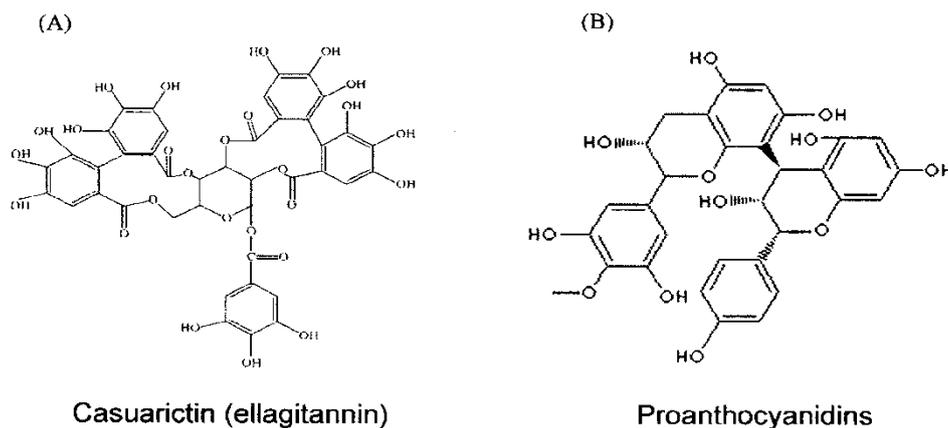


Figure 11 : Structures chimiques du tanin hydrolysable (A) et des tanins non hydrolysables ou condensés (B) (Lourdes Reis Giada, 2013).

2.4.1.1.4 Les anthocyanes

Les anthocyanidines sont des pigments végétaux courants, les homologues sans sucre de l'anthocyanine. Ils ont deux doubles liaisons dans le cycle C positif. Ils sont basés sur le cation flavylum, un ion oxonium, avec divers groupes substitués à ses atomes d'hydrogène. Elle est existente sous forme des glycosides, tandis que sous forme d'aglycone, elles sont appelées anthocyanidines. Les principales anthocyanidines présentes dans les plantes sont le cyanure, la delphidine, la péonidine, la malvidine, la pétunidine et la pélargonidine (Aftab et Khalid, 2021).

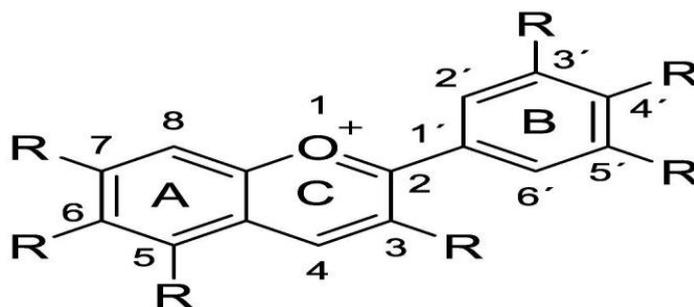


Figure 12 : Structure chimique du squelette anthocyanidine avec numérotation des atomes et étiquette cyclique (R = H, OH) (Derek J. McPhee, 2020).

2.4.1.1.5 Coumarines

Les coumarines sont présentes dans toutes les parties de la plante, des racines aux fleurs et aux fruits, et se trouvent largement répandues dans diverses familles des plantes (Taito O, 1964). La fonction principale des coumarines dans les plantes est de les protéger contre les prédateurs. Ils peuvent se présenter à l'état libre ou glycosylé, la coumarine est

classée comme membre de la benzopyrone famille des composés, tous constitués d'un cycle benzénique relié à un anneau de pyrone (benzo- α -pyrones) (**Richard O'Kennedy, 2004**).

Dans le règne végétal, les coumarines sont présentes dans les espèces végétales monocotylédones et dicotylédones et sont produites à des niveaux élevés dans les familles des plantes Umbelliferae , Rutaceae , Leguminosae , Oleaceae , Moraceae et Thymelaeaceae. (**Ioannis A et al., 2019**).

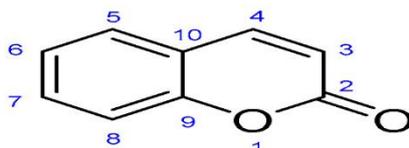


Figure 13 : Structure du noyau coumarine (**Annunziata et al., 2020**)

2.4.1.1.6 Les quinones

Les quinones sont un sous-ensemble de la famille des quinoïdes qui contient également les quinones imines et les quinones méthides, Aussi qui contiennent la structure cyclohexadiènedione, sont les plus nombreuses des quinoïdes et se trouvent couramment dans plusieurs produits naturels, produits biochimiques endogènes, médicaments et produits chimiques environnementaux et/ou sont générées par le métabolisme des composés aromatiques (**Bolton et Tareisha, 2017**).

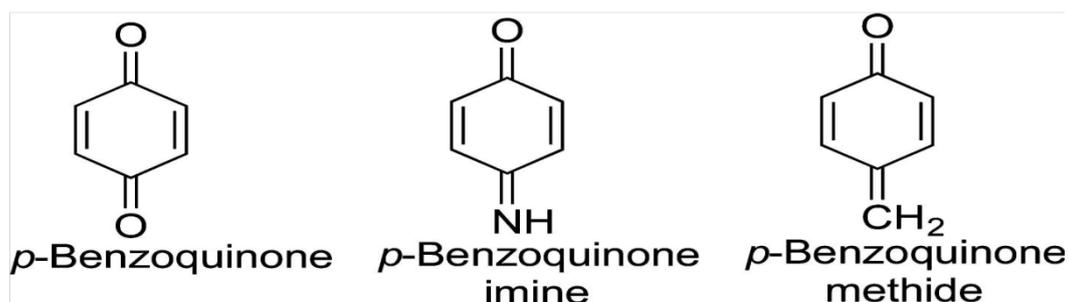


Figure 14 : Structure des molécules de la quinone (**Bolton et Tareisha, 2017**).

2.4.1.1.7 Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont un groupe des métabolites secondaires impliqués dans le piégeage du peroxyde d'hydrogène dans les cellules végétales. Ils ont un potentiel prometteur en tant qu'agents antibiofilm et antifongiques. Les niveaux élevés des polyphénols dans les plantes médicinales sont corrélés avec des activités anti-inflammatoires et antioxydantes. Les effets bénéfiques des polyphénols sur la santé humaine comprennent l'antioxydation, l'antibactérien, la cardioprotection, l'anticancéreux, la promotion du système immunitaire,

l'anti-inflammation et la protection de la peau contre les rayons UV. Certains d'entre eux jouent divers rôles de phytochimiques protecteurs contre les stress abiotiques, utilisés par les humains pour traiter plusieurs affections, notamment les infections bactériennes, protozoaires, fongiques et virales, l'inflammation, le diabète et le cancer (Sun et shahrajabian, 2023).

2.4.2 Les terpènes (les isoprénoïdes et Les terpénoïdes)

Les terpènes, également connus sous le nom d'isoprénoïdes, sont des composés organiques présents dans les plantes. Les terpénoïdes, dérivés des terpènes, contiennent souvent de l'oxygène. Les terpènes sont les principaux constituants des huiles essentielles et sont responsables des parfums distinctifs associés aux différentes plantes. Ils sont les plus grands et les plus divers dans la nature et sont les véhicules informatifs et défensifs utilisés par les plantes pour les interactions antagonistes et mutualistes. La production des terpènes par les plantes pour contrer les stress biotiques (microbes pathogènes, herbivores nuisibles et mauvaises herbes) et abiotiques (eau, température, lumière et sel) est largement étudié (Ninkuu et al., 2021).

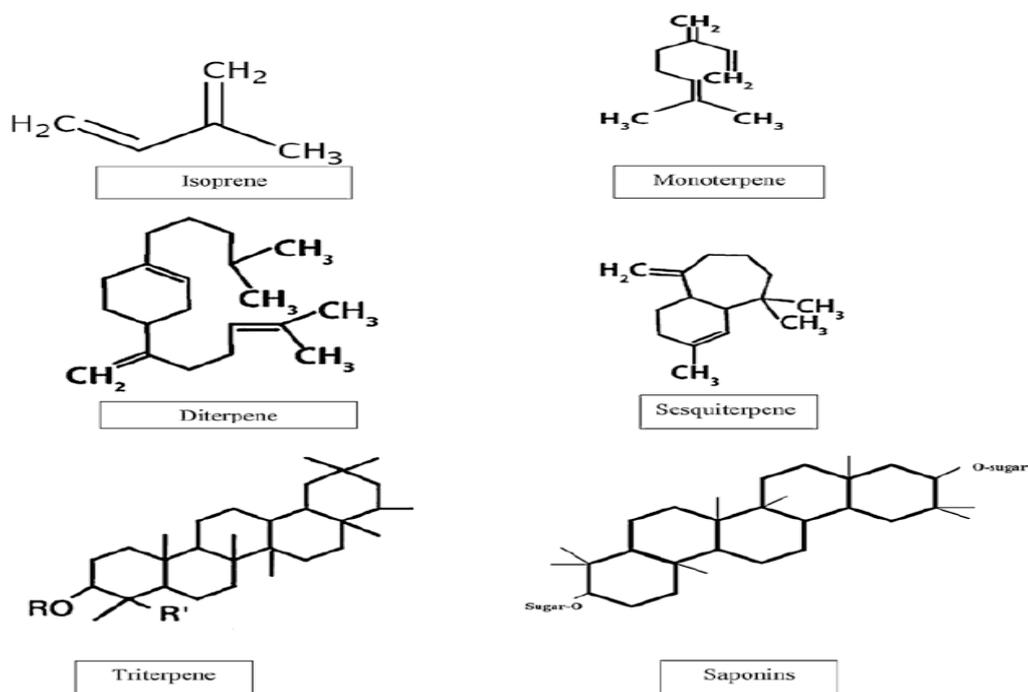


Figure 15 : Structure de l'isoprène de base et des différents types de terpènes (Aftab et Khalid, 2021).

2.4.3 Les composés azotés (Les Alcaloïdes)

Les alcaloïdes représentent un groupe large et structurellement diversifié des métabolites secondaires que l'on peut trouver dans 300 familles des plantes, ainsi que dans les

bactéries, les champignons et les animaux. Elles sont caractérisées par une grande diversité structurale ; le seul trait fédérateur est la présence d'un atome d'azote basique qui peut se présenter sous la forme d'une amine primaire (RNH_2), d'une amine secondaire (R_2NH) ou d'une amine tertiaire (R_3N) (**Bruno Casciaro et al., 2020**). Plus de 12 000 types d'alcaloïdes sont connus pour se produire dans environ 150 familles de plantes, les plus importantes étant les Ranunculaceae, les Solanaceae, les Apocynaceae, les Papaveraceae, les Fabaceae et les Rutaceae. (**Aftab et Khalid, 2021**).

Chimiquement, les alcaloïdes sont des composés organiques cycliques de faible poids moléculaire contenant de l'azote; le N provient d'un des acides aminés essentiels. Cependant, les alcaloïdes comme les autres métabolites secondaires ne peuvent pas être simplement classés. Les alcaloïdes peuvent être divisés en trois grandes catégories : les vrais, proto et pseudo-alcaloïdes (**Aftab et Khalid, 2021**).

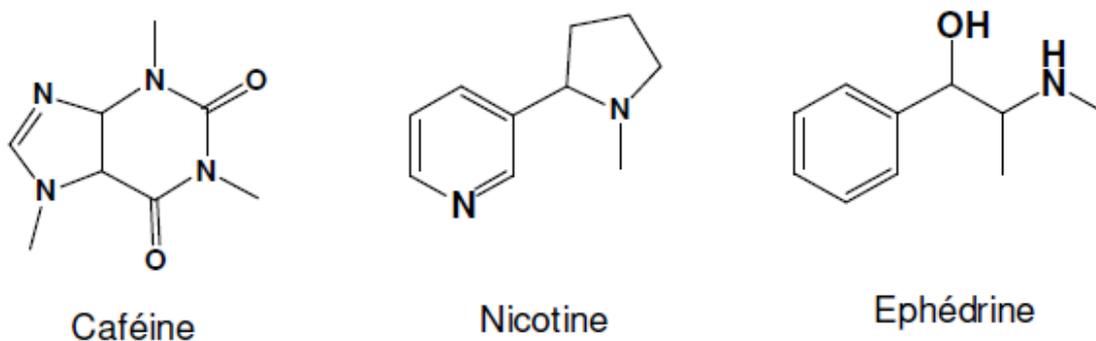


Figure 16 : Structure de quelques alcaloïdes

2.4.3.1 Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des alcaloïdes

Leur activité biologique exceptionnelle est apportée par la capacité à former des liaisons hydrogène avec des enzymes, des récepteurs et des protéines grâce à la présence d'un atome d'azote accepteur de protons et d'un ou plusieurs protons donateurs d'atomes d'hydrogène d'amine (**Bruno Casciaro et al., 2020**).

Les alcaloïdes peuvent affecter le système nerveux central en agissant comme antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine), et le système nerveux autonome en agissant comme agents sympathomimétiques (éphédrine), ou sympatholytiques, parasymphatomimétiques, anti-cholinergiques et ganglioplégiques. On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'anti-fibrillants, d'anti-tumoraux, et d'antipaludiques (**Bruneton. J, 1999**).

Chapitre 3

Le stress Oxydant

3.1 Le stress oxydant

Le stress oxydatif est défini comme le déséquilibre entre l'apparition d'espèces réactives oxygène/azote (ROS/RNS) et les défenses antioxydantes cellulaires (**Raghavendhar et al., 2022**). On dit que la balance antioxydantes/pro-oxydants dans l'organisme (homéostasie rédox) est en équilibre, mais elle peut être rompue par une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (comme dans le vieillissement ou l'athérosclérose) ou une diminution des capacités antioxydantes (comme chez les personnes souffrant d'obésité et les fumeurs), conduisant à un phénomène appelé stress oxydant. Cependant, un déséquilibre régulé peut être induit par l'activation de systèmes de production d'ERO, La réponse antioxydant est alors efficace pour compenser cette production et le déséquilibre est transitoire (**Migdal et Serres, 2011**).

3.2 Les radicaux libres

Un radical libre peut être défini comme toute espèce moléculaire capable d'existence indépendante qui contient un électron non apparié dans une orbitale atomique. La présence d'un électron non apparié entraîne certaines propriétés communes partagées par la plupart des radicaux. De nombreux radicaux sont instables et hautement réactifs. Ils peuvent soit donner un électron à d'autres molécules, soit accepter un électron d'autres molécules, se comportant donc comme des oxydants ou des réducteurs (**V. Lobo et al., 2010**).

Les radicaux libres comprennent l'hydroxyle ($\text{OH} \bullet$), le superoxyde ($\text{O}_2 \bullet^-$), l'oxyde nitrique ($\text{NO} \bullet$), peroxyde ($\text{ROO} \bullet$) et le peroxyde lipidique ($\text{LOO} \bullet$). Sont quelques exemples de radicaux oxygénés. Aussi, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'ozone (O_3), l'acide hypochloreux (HOCl), l'acide nitreux (HNO_2), ne sont pas des radicaux libres et généralement appelés oxydants, mais peuvent facilement conduire à des réactions radicalaires dans les organismes vivants (**Lien Ai Pham-Huy et al., 2008**).

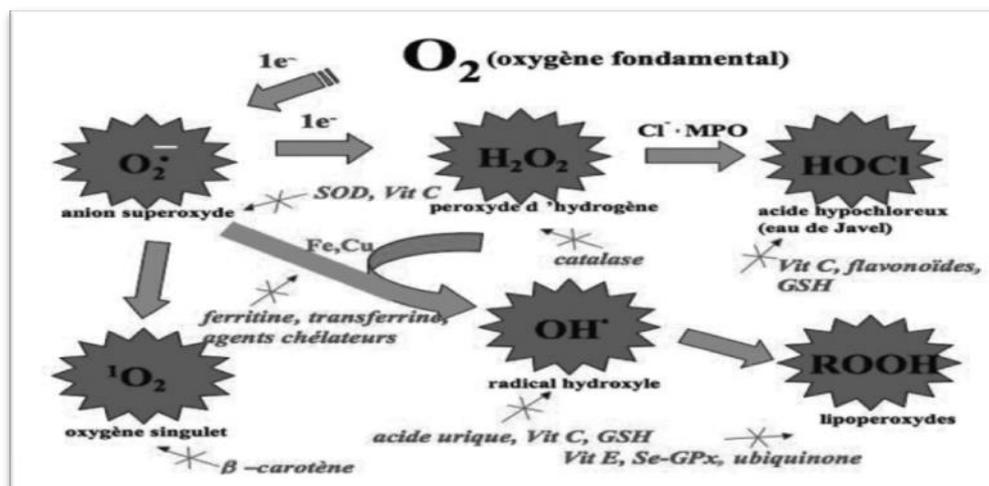


Figure 17 : Les différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (foncJ. Haleng et al., 2007).

3.3 Les marqueurs biologiques de stress oxydant

Un équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants est nécessaire au bon fonctionnement physiologique. Si les radicaux libres submergent la capacité du corps à les réguler, une condition connue sous le nom de stress oxydatif s'ensuit. Les radicaux libres altèrent ainsi les lipides, les protéines et l'ADN et déclenchent un certain nombre des maladies humaines (V. Lobo et al., 2010).

Tableau 7 : exemple des produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée (Cano et al., 2007).

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

3.4 Les maladies liées au stress oxydatif

le stress oxydatif contribue de manière significative à toutes les maladies inflammatoires (arthrite, vascularite, glomérulonéphrite, lupus érythémateux, syndrome des maladies respiratoires de l'adulte), les maladies ischémiques (maladies cardiaques, accident vasculaire cérébral, ischémie intestinale), l'hémochromatose, le syndrome d'immunodéficience acquise, l'emphysème, transplantation d'organes, ulcères gastriques, hypertension et prééclampsie, troubles neurologiques (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, dystrophie

musculaire), alcoolisme, maladies liées au tabagisme et bien d'autres. Un excès de stress oxydatif peut entraîner l'oxydation des lipides et des protéines, qui est associée à des modifications de leur structure et de leurs fonctions (**V. Lobo et al., 2010**).

3.5 Alimentation et stress oxydant

L'alimentation peut avoir un impact important sur le stress oxydant dans l'organisme. Certains aliments peuvent être riches en antioxydants, tels que les fruits et légumes les épices et les herbes, Ces aliments peuvent augmenter la production des radicaux libres dans le corps et contribuer à des niveaux plus élevés de stress oxydant.

Les antioxydants alimentaires, tels que les vitamines, les caroténoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes et les bioflavonoïdes, sont des antioxydants exogènes qui ont une activité *in vivo* (**Raghavendhar et al., 2022**).

La nutrition peut également provoquer un stress oxydatif, augmenter une cascade des réactions moléculaires dans les cellules et modifier l'état métabolique des tissus. la nutrition peut induire un stress oxydatif même dans des conditions physiologiques normales dans le corps humain, et les facteurs alimentaires peuvent également servir à des facteurs inflammatoires et pro-oxydants. Ainsi, le stress oxydatif nutritionnel pourrait être décrit comme un déséquilibre postprandial entre la défense antioxydante et la charge pro-oxydante en conséquence d'un apport inadéquat ou excessif de nutriments (**Subbroto et al., 2017**).

Chapitre 4

Les Antioxydants

4.1 Les antioxydants

Par définition les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003).

Les antioxydants ont été utilisés comme conservateurs alimentaires, lubrifiants et stabilisants. Les oxydants définit comme nocifs et les antioxydants comme l'antithèse (Raghavendhar et al., 2022).

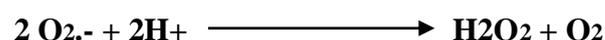
Des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques existent dans l'environnement intracellulaire et extracellulaire pour détoxifier les ROS (V. Lobo et al., 2010).

4.1.1 Les antioxydants enzymatiques

L'un des systèmes de défense antioxydants endogènes sont principalement des enzymes, telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion réductase (GR) et la glutathion peroxydase (GPx), ces enzymes convertissent le superoxyde réactif et le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (Raghavendhar et al., 2022). La récupération des ROS (Réactions enzymatiques) :

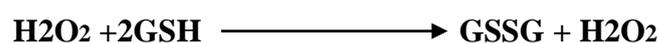
Les enzymes superoxyde dismutases (SOD) éliminent $O_2^{\cdot-}$ en catalysant sa dismutation, un $O_2^{\cdot-}$ étant réduit en H_2O_2 et un autre oxydé en O_2 .

(SOD)



les enzymes d'élimination de H_2O_2 les plus importantes chez les animaux est les glutathion peroxydases, une famille d'enzymes contenant du sélénium qui éliminent H_2O_2 en couplant sa réduction en eau avec oxydation du glutathion réduit (GSH), un tripeptide contenant un thiol (glu-cys-gly).

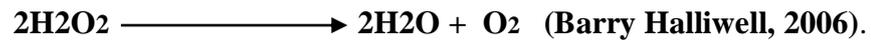
Glutathion peroxydases



Le produit, le glutathion oxydé (GSSG), se compose de deux GSH liés par un pont disulfure et peut être reconverti en GSH par les enzymes glutathion réductase.

Les catalases, dont la plupart sont des protéines contenant de l'hème, elles catalysent la dégradation rapide de H_2O_2 .

Catalase



Il existe de nombreuses autres enzymes antioxydantes comme les peroxyredoxines, l'hème oxygénase, la glutathion transférase, les thioredoxines réductases ou les thioredoxines peroxydases. La plupart des enzymes décrites ci-dessus, de même que les enzymes de réparation des dommages oxydants, vont utiliser un donneur d'équivalent réducteur, le NADPH, qui constitue avec le glutathion les plaques tournantes de la défense antioxydante (**Favier, 2003**).

4.1.2 Antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants endogènes non enzymatiques, tels que le glutathion et l'acide lipoïque, sont des produits du métabolisme de l'organisme. Les antioxydants non enzymatiques peuvent agir comme une défense de deuxième ligne contre les ROS en inactivant rapidement les radicaux et les oxydants (**Raghavendhar et al., 2022**).

Certains composés antioxydants comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. La vitamine piégeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ainsi, la vitamine E est régénérée par la vitamine C qui est elle-même régénérée par des enzymes, les ascorbates réductases. Ce type d'antioxydant est appelé piégeur ou éboueur (« scavenger » pour les Anglo-saxons). De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement : polyphénols, alcaloïdes, phytates. Il existe de plus des composés endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle ; le plus important est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO• (**Favier, 2003**).

4.2 Antioxydants d'origine végétale

Les caroténoïdes et les polyphénols constituent de vastes familles des composés (plusieurs centaines) parmi lesquels se trouvent le β carotène (famille des caroténoïdes), l'acide caféique et la quercétine (famille des polyphénols). Caroténoïdes et polyphénols sont généralement de bons capteurs des radicaux hydroxyles $\cdot\text{OH}$ et peroxydes RO_2 . Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique, mais d'une manière moins efficace semble-t-il que ne le fait l' α -tocophérol. En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capteur d'oxygène singulet, $^1\text{O}_2$, ce qui leur permet d'exercer une protection

vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (**Gardès-Albert et al., 2003**).

4.3 Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont des composés synthétisés chimiquement car ils n'existent pas dans la nature et sont ajoutés aux aliments comme conservateurs pour aider à prévenir l'oxydation des lipides. En raison de l'instabilité inhérente des antioxydants naturels, plusieurs antioxydants synthétiques ont été utilisés pour stabiliser les graisses et les huiles. L'hydroxytoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) ont été développés à l'origine pour protéger le pétrole du gommage oxydatif. Cependant, ces composés sont utilisés comme antioxydants dans les aliments humains depuis 1954 et sont peut-être les antioxydants les plus couramment utilisés dans ces aliments aujourd'hui. Le BHT et le BHA ont non seulement des noms similaires, mais des structures et une activité antioxydante similaires et sont souvent utilisés ensemble dans les graisses et les huiles. Malgré le fait que le BHT et le BHA sont inclus dans la liste des substances qui sont "généralement acceptées comme sûres". Certaines études de toxicité chronique ont impliqué le BHT comme promoteur potentiel de tumeur lorsqu'il est nourri à des niveaux élevés. En revanche, le BHA et le BHT peuvent tous deux être d'importants inhibiteurs de la carcinogenèse, probablement en raison de leur fonction antioxydante. Ainsi, il y a eu quelques tentatives pour éliminer ces antioxydants, le TBHQ (tert-butylhydroxyquinone) est un autre antioxydant synthétique largement utilisé dans l'industrie de l'alimentation animale. Comme le BHT et le BHA, le TBHQ a un noyau benzénique ou une structure phénolique. D'autres exemples d'antioxydants synthétiques sont le gallate de propyle (PG), le gallate de dodécyle (DG), l'octylgallate (OG) et l'acide éthylène diaminetétraacétique (EDTA) (**M. Atta et al., 2017**).

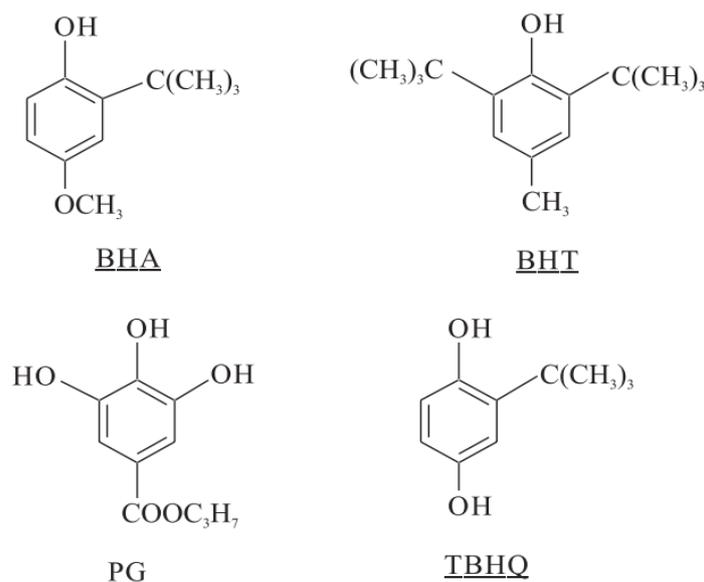


Figure 18 : Structure phénolique des antioxydants synthétiques (Ramalho et Neuza, 2006).

4.4 Evaluation in vitro de l'activité antioxydante

4.4.1 Introduction

Il existe plusieurs méthodes de détermination de l'antioxydant activités. La complexité chimique des extraits, souvent un mélange de dizaines de composés avec différents groupes fonctionnels, la polarité et le comportement chimique, pourraient conduire à des résultats dispersés, selon le test employé. Par conséquent, une approche avec tests multiples pour évaluer le potentiel antioxydant des extraits serait plus informatifs et même nécessaires (Chaouche et al., 2013).

La capacité de ces antioxydants a été évaluée dans de nombreuses études par différentes méthodes dans différentes conditions. Un certain nombre des méthodes et de variantes ont été développées et appliquées pour la mesure de la capacité et de l'efficacité antioxydantes, mais très souvent il y a absence de corrélation entre les activités déterminées sur le même matériel par différents dosages et entre les activités déterminées par le même dosage dans différents laboratoires. Ceci est compréhensible puisque plusieurs espèces actives, caractéristiques et mécanismes de réaction sont impliqués dans le stress oxydatif dans le corps humain, et il n'y a donc pas de méthode universelle simple par laquelle la capacité antioxydante peut être évaluée avec précision et quantitativement (Etsuo Niki, 2010).

4.4.2 Méthodes de piégeage des radicaux libres oxygénés

4.4.2.1 Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV.

Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piègeurs la valeur d'absorbance de ce dernier à 230 nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (**Magalhaes et al., 2008**).

4.4.2.2 Piégeage du radical 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

Le DPPH (radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•, DPPH-R) découvert par Goldsmith et Renn en 1922, en raison de sa stabilité et d'un potentiel redox suffisamment élevé pour oxyder les antioxydants naturels les plus courants, a été proposé pour le dosage de la capacité antioxydante des matériaux biologiques. Depuis lors, une méthode spectrophotométrique pratique avec DPPH a été largement rapportée pour estimer la capacité antioxydante des produits chimiques ainsi que de nombreux produits d'origine naturelle (**Jolanta Flieger et Michal Flieger, 2020**).

Le dosage du 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode chimique qui mesure la capacité d'un composé à piéger les radicaux libres en fonction de la diminution de l'absorbance au cours de la réaction (**Heloisa et al., 2016**).

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH (**Bentabet et al., 2014**).

Le radical DPPH est réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H) via la fixation d'un atome d'hydrogène ou d'un électron au centre du radical en raison de la réaction avec un antioxydant. Les antioxydants peuvent réagir avec le DPPH• par différents mécanismes possibles tels que le HAT (transfert d'atome d'hydrogène) et des réactions en plusieurs étapes telles que le SET (transfert d'électron unique) et le SPLET (transfert séquentiel d'électron par perte de proton) ou mixte mécanismes (**Jolanta Flieger et Michal Flieger, 2020**).

4.4.2.3 Puissance antioxydante de réduction du fer (analyse FRAP)

Parmi les méthodes utilisées pour déterminer la capacité de réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} figure le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP), une méthode colorimétrique qui utilise la capacité des antioxydants à réduire l'incolore $[Fe^{3+}-(2,4,6\text{-Tris}(2\text{-pyridyl)}\text{-s-triazine)}_2]^{3+}$ au complexe intensément bleu $[Fe^{2+}-(TPTZ)_2]^{2+}$ en milieu acide réduction du fer, Ces changements de couleur sont mesurés par spectrophotométrie à 593 nm. Les résultats sont calculés sur la base de l'utilisation d'une solution étalon d'ions ferreux et de certains étalons antioxydants (dans la plupart des cas, le trolox). Une caractéristique importante à considérer à ce stade est le caractère pro-oxydant du dosage. Car la réaction produit Fe^{2+} qui participe à une réaction de Fenton conduisant à la formation d'un radical hydroxyle. Cependant, des antioxydants hautement actifs, comme les polyphénols, peuvent résoudre ce problème en piégeant les radicaux libres malgré leur activité vis-à-vis de Fe^{3+} (Wojtunik-Kulesza, 2020).

4.4.2.4 Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta carotène (β -carotene bleaching method)

Cette technique consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du bêta-carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique.

La dispersion de l'acide linoléique et du bêta-carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50°C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de la décoloration du bêta-carotène (Koleva et al., 2001).

Cette méthode est, d'autre part, sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du bêta-carotène et l'interprétation des données n'est pas aisée car le bêta-carotène est lui-même un antioxydant (Laguerre et al., 2007).

Chapitre 5

Etude comparative de

l'activité antioxydant

De l'extrait brut de

thymus ciliatus ssp

Euciliatus et la ssp

coloratus

En générale, l'étude comparative a été menée pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait brut de la partie aérienne des ssp *euciliatus* et *coloratus* en utilisant quatre méthodes, la méthode de réduction du fer (FRAP), ensuite, le piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), de plus, le piégeage du peroxyde d'hydrogène (activité de captation de H₂O₂), enfin, l'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de décoloration du bêta-carotène, ces différentes méthodes ont permis de comparer l'activité antioxydante de l'extrait brut des deux ssp *euciliatus* et *coloratus*.

Les résultats (**selon (KHOLKHAL, 2014)**) de cette étude peuvent contribuer à mieux comprendre les propriétés antioxydantes des deux ssp et à identifier la variété qui présente une activité antioxydante plus prononcée dans leurs parties aériennes.

5.1 Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) (**Hamadou Habibou et al., 2019**).

Dans cette étude par la méthode FRAP, le principe est découvrir la sous-espèce de *Thymus ciliatus* qui présente l'activité antioxydante la plus puissante dans l'extrait brut de la partie aérienne. À partir des valeurs obtenues dans cette étude (absorbance à 700nm, la concentration 1,5 mg/ml), il est possible de tracer des courbes spécifiques pour chaque plante.

5.2 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1- picrylhydrazyl)

L'un des dosages colorimétriques les plus populaires pour estimer la capacité de piégeage des radicaux des plantes et des extraits est le dosage du 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). Cette méthode est précise, facile à mettre en œuvre et économique, fournissant un criblage de l'activité générale des antioxydants et est basée sur un radical stable et synthétique (**Gonçalves et al., 2018**).

Pour cette étude, Nous avons utilisé une méthode de dilution en cascade pour évaluer les propriétés du composé à tester (l'extrait brut de la partie aérienne), ainsi que des substances de référence telles que l'acide ascorbique et le BHA. Cette approche nous a permis d'obtenir une série de concentrations de l'extrait des deux sous-espèces, pour lesquelles nous avons mesuré la densité optique à 515 nm. Les valeurs obtenues ont ensuite été utilisées pour générer des courbes qui nous ont permis de déterminer le pourcentage de DPPH restant et la valeur de l'IC₅₀.

Les résultats graphiques présentés (annexe) illustrent les variations des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'extrait, d'acide ascorbique et de BHA. Ces variations démontrent clairement l'impact significatif des concentrations utilisées, indiquant ainsi la présence des composés actifs capables de réduire le radical DPPH.

5.3 Activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène (*H₂O₂ scavenging activity*)

Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) provient de O_2 par superoxyde dismutases (SOD). Ce n'est pas un radical libre en tant que tel, mais c'est une molécule réactive, car elle a la capacité de générer le radical hydroxyle en présence de métaux tels que le fer, elle est un métabolite important qui apparaît principalement au cours du métabolisme aérobie, bien qu'il puisse provenir d'autres sources (Mokhtari et al., 2020).

Le H_2O_2 l'activité de piégeage des antioxydants a été basée sur le spectrophotomètre UV. H_2O_2 a une absorbance optimale à 230 nm, en fonction de sa concentration (Neeraj et al., 2011).

Dans cette étude, le peroxyde d'hydrogène, une molécule connue pour sa toxicité, a été exposé à l'action des antioxydants présents dans un extrait végétal brut, à une concentration de **0,1 µg/ml**. L'évolution de la réaction a été suivie pendant une période de **40 minutes**, et par la suite, le pourcentage de piégeage du H_2O_2 a été calculé.

Pour les deux sous-espèces (ssp euciliatus et coloratus) les résultats trouvés regroupés dans les **tableaux suivantes**.

Tableau 8 : Cinétique de l'activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène d'extrait brut de la partie aérienne de la ssp coloratus.

Echantillon	Temps (min)				
	0	10	20	30	40
Extrait brut (Partie aérienne)	68,43	60,64	56,78	53	46,6

Dans l'étude menée par (Shon et al., 2007). Les auteurs utilisent les valeurs obtenues à t_0 et comparent l'activité d'extrait par rapport au contrôle positif (BHA).

Tableau 9 : Cinétique de l'activité du piégeage du peroxyde d'hydrogène d'extrait brut de la partie aérienne de la ssp euciliatus.

Echantillon	Temps (min)				
	0	10	20	30	40
Extrait brut (Partie aérienne)	70	68,62	65,19	63,20	56,04

5.4 Activité antioxydante par la méthode de décoloration du bêta-carotène (*β -carotene bleaching method*)

Le β -carotène est l'un des pigments alimentaires liposolubles les plus importants. Il joue un rôle important dans la santé humaine en agissant comme antioxydant biologique, protégeant les cellules et les tissus des effets néfastes des radicaux libres et de l'oxygène singulet (Alam Zeb, 2011).

En l'absence d'antioxydants, les hydro-péroxydes de l'acide linoléique attaquent le β -carotène, entraînant une décoloration rapide. Cette perte de coloration est directement liée à une diminution de l'absorbance, qui peut être mesurée de manière précise par spectrophotométrie (Kubola et Siriamornpun, 2008).

CONCLUSION
GENERALE

Les plantes médicinales sont de plus en plus reconnues pour leur potentiel thérapeutique dans le domaine de la médecine traditionnelle et de la phytothérapie. Ces plantes renferment une variété de composés naturels bioactifs, tels que les composés phénoliques et les huiles essentielles, Ces composés ont démontré des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses.

Les molécules naturelles de nature phénolique présentes dans les plantes offrent un potentiel prometteur en tant qu'agents thérapeutiques. Contrairement aux médicaments synthétiques, ces molécules ont tendance à présenter moins d'effets secondaires indésirables. Parmi les additifs couramment utilisés dans l'industrie alimentaire, le BHA, le BHT et l'acide ascorbique.

L'objectif principal de cette étude consiste à évaluer les propriétés antioxydantes de *Thymus ciliatus* ssp *euciliatus* et ssp *coloratus*, qui demeurent des plantes d'un intérêt considérable tant dans la médecine traditionnelle que dans l'industrie alimentaire pour les populations locales. Ces plantes ont été largement utilisées depuis des générations en raison de leurs bienfaits potentiels pour la santé et de leurs propriétés culinaires.

Chaque sous-espèce de *Thymus* présente des compositions riches et variées en métabolismes secondaires. Ces métabolismes sont des composés bioactifs qui confèrent aux plantes leurs propriétés thérapeutiques et protectrices. Les métabolismes secondaires comprennent une vaste gamme des composés, tels que les polyphénols, les terpènes et les flavonoïdes. Chaque sous-espèce de *Thymus* a sa propre combinaison unique des métabolismes secondaires, ce qui lui confère des caractéristiques spécifiques. Par exemple, le *Thymus* ssp *euciliatus* peut contenir des niveaux élevés de thymol, un composé reconnu pour ses propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires. D'autre part, le *Thymus* ssp *coloratus* peut être une source abondante de carvacrol, un autre composé présentant des propriétés antimicrobiennes. Ces métabolismes confèrent à ces espèces de thym des propriétés bénéfiques pour la santé.

Le *Thymus* est une plante aromatique qui se décline en différentes espèces, dont le *Thymus* ssp *euciliatus* et le *Thymus* ssp *coloratus*. Ces variétés sont réputées pour leurs propriétés bénéfiques sur la santé. En effet, le thymus contient des composés actifs qui peuvent aider à lutter contre le stress oxydant. Ces sous-espèces sont connues pour leurs propriétés antioxydantes, qui sont essentielles pour neutraliser les effets néfastes.

La comparaison entre les deux sous-espèces a été étudiée en utilisant divers mécanismes : le piégeage direct des radicaux libres à l'aide de la méthode du radical libre DPPH, la réduction du fer par la méthode FRAP, le piégeage du dérivé oxygéné peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), ainsi que le pouvoir réducteur et protecteur du β-carotène contre l'oxydation induite par les produits de peroxydation lipidique. Ces différentes méthodes nous ont permis de déterminer et de comparer l'activité antioxydante globale de l'extrait brut dans cette étude. Les résultats ont montré que la ssp *euciliatus* présente une activité antioxydante significativement supérieure par rapport au ssp *coloratus*. Cela démontre donc la puissance antioxydante plus élevée du ssp *euciliatus* dans notre étude.

Le contenu en métabolismes secondaires de chaque extrait et fraction joue un rôle crucial dans les capacités antioxydantes mesurées *in vitro*. Les substances antioxydantes présentes, leur nature, leur concentration, leur structure et leurs interactions moléculaires contribuent à renforcer cette activité de manière synergique. Ainsi, l'activité antioxydante observée résulte de la combinaison complexe et harmonieuse de ces composés, de leurs concentrations et de leurs interactions. En résumé, l'efficacité antioxydante dépend de la présence et de l'interaction de différents composés, ce qui conduit à une activité antioxydante globale plus élevée.

Finalement, les antioxydants naturels présents dans les espèces végétales locales, en particulier dans les sous-espèces *coloratus* et *euciliatus*, peuvent être utilisés pour renforcer l'organisme et prévenir les pathologies causées par le stress oxydatif. Leurs propriétés antioxydantes aident à neutraliser les radicaux libres et à réduire les dommages oxydatifs.

Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- élargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques: anti-tumoral, anticancéreux et anti-inflammatoire,
- caractériser et isoler les principes actifs responsables de ces propriétés pharmacologiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- L'OMS crée le Centre mondial de médecine traditionnelle en Inde, 2022.
- Imane Tagnaout, Hannou Zerkani, Nadia Hadi, Bouchra El Moumen, Fadoua El Makhoukhi, Mohamed Bouhrim, Rashad Al-Salahi, Fahd A. Nasr, Hamza Mechchate, et Touriya Zair. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Thymus broussonetii* Boiss and *Thymus capitatus* (L.) Hoffmann and Link Essential Oils, 2022.
- Raghavendhar R. Kotha, Fakir Shahidullah Tareq, Elif Yildiz, et Devanand L. Luthria. Oxidative Stress and Antioxidants—A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays, 2022.
- Ghedira K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005, Vol 3(4) ; pp 162-169.
- Afnan Alqethami et Amal Y. Aldhebiani. Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: A gender perspective, 2020.
- Natalia Vaou, Elisavet Stavropoulou, Chrysa Voidarou, Christina Tsigalou et Eugenia Bezirtzoglou. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives, 2021.
- Nuria I. Guardoa, Paula Sainza, Azucena González-Colomaa, Jesús Burillo and Rafael A. Martínez-Díaz. Trypanocidal Effects of Essential Oils from Selected Medicinal Plants. Synergy among the Main Components, 2017.
- KAZI TANI Choukry et DALI YAHIA Kamel. Quatre-vingt-quatorze plantes médicinales odonto-stomatologiques d'Algérie, *Al Yasmina* 1, 2020, PP : 12/1-22.
- Sanjay Kr Uniyal, KN Singh ,Pankaj Jamwal & Brij Lal, Utilisation traditionnelle des plantes médicinales parmi les communautés tribales de Chhota Bhangal, Himalaya occidental 2006.
- Tariq Aftab Khalid Rehman Hakeem Medicinal and Aromatic Plants Healthcare and Industrial Applications, 2021.
- Ryan D. Rattray et Ben-Erik Van Wyk. The Botanical, Chemical and Ethnobotanical Diversity of Southern African Lamiaceae, 2021.
- Nazia Nazar, Caroline Howard, Adrian Slater et Tiziana Sgamma. Challenges in Medicinal and Aromatic Plants DNA Barcoding—Lessons from the Lamiaceae, 2022.
- Radhia Aitfella Lahlou, Nsevolo Samba, Pedro Soeiro, Gilberto Alves, Ana Carolina Gonçalves, Luís R. Silva, Samuel Silvestre, Jesus Rodilla, and Maria Isabel Ismael. *Thymus hirtus* Willd. ssp. *algeriensis* Boiss. and Reut: A Comprehensive Review on Phytochemistry, Bioactivities, and Health-Enhancing Effects, 2022.
- Mariana Roxo, Mónica Zuzarte, corresponding author; Maria José Gonçalves, Jorge M. Alves-Silva, Carlos Cavaleiro, Maria Teresa Cruz, and Lúgia Salgueiro. Antifungal and anti-inflammatory potential of the endangered aromatic plant *Thymus albicans*, 2020.

- TOUHAMI Aicha. 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, 2017.
- Danial Sarfaraz, Mehdi Rahimmalek, and Ghodratollah Saeidi. Polyphenolic and molecular variation in *Thymus* species using HPLC and SRAP analyses, 2021.
- Aziz Drioiche, Fatima Zahra Radi, Atika Ailli, Amal Bouzoubaa, Amale Boutakiout, Soumia Mekdad, Omkulthom AL Kamaly, Asmaa Saleh, Mohamed Maouloua, Dalila Boustia, Server Sahpaz, Fadoua EL Makhoukhi et Touriya Zair. Correlation between the chemical composition and the antimicrobial properties of seven samples of essential oils of endemic *Thymes* in Morocco against multi-resistant bacteria and pathogenic fungi, 2022.
- Ghomari F.N., Kouache B., Arous A., Cherchali S. Effet de traitement par fumigation du Thym (*Thymus vulgaris*) sur le *Varroa destructor* agent de la varroase des abeilles. *Nature & Technology*, 2014.
- Saidj Faiza, Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus kabylica*-Thèse de magistère en Technologie des hydrocarbures, Département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques ; université M'Hamed Bougara-Boumerdes, 2007.
- Iraj Rasooli, Mohammad Bagher Rezaei, Abdolamir Allameh. Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*, 2006, Vol. 10; pp 236-241.
- Dalal Hammoudi Halat, Maha Krayem, Sanaa Khaled et Samar Younes. A Focused Insight into Thyme: Biological, Chemical, and Therapeutic Properties of an Indigenous Mediterranean Herb, 2022.
- Minju Kim, Kandhasamy Sowndhararajan, and Songmun Kim. The Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil from Korean Native Thyme *Bak-Ri-Hyang* (*Thymus quinquecostatus* Celak, 2022).
- Majid Gholami-Ahangaran, Asiye Ahmadi-Dastgerdi, Shahrzad Azizi, Asal Basiratpour, Maryam Zokaei and Masoud Derakhshan. Thymol and carvacrol supplementation in poultry health and performance, 2022.
- Sandra T. Krause, Pan Liao, Christoph Crocoll, Benoît Boachon, Christiane Förster, Franziska Leidecker, Natalie Wiese, Dongyan Zhao, Joshua C. Wood, C. Robin Buell, Jonathan Gershenzon, Natalia Dudareva and Jörg Degenhardt. The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase, 2021.
- Pauli et Knobloch, Inhibitory effects of essential oil components on growth of food-contaminating fungi-Z *Lebensm Unters Forsch*, 1987.

- Ahmed Kabouchea, Alireza Ghannadib et Zahia Kabouche., , *Thymus ciliatus – The Highest Thymol Containing Essential Oil of the Genus*, 2009, Vol.4 ; pp : 1251-1252.
- Fatiha Amarti, Badr Satrani, Mohamed Ghanmi, Abdellah Farah, Abderrahman Aafi, Lotfi Aarab, Mustapha El Ajjouri, Abdelaziz Chaouch. *Chemical composition and antimicrobial activity of the Thymus algeriensis Boiss. & Reut. and Thymus ciliatus (Desf.) Benth. Essential oils of Morocco*, 2010.
- Choukri Tefiani. *Les propriétés biologiques des huiles essentielles de Curcuma longa, Ammoides verticillata et Thymus ciliatus ssp. eu-ciliatus*, 2015.
- Pierre Quezel et Sébastien Santa, *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris, 1963.*
- kholkhal F, *Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus*, 2014.
- Andrea F. Afonso, Olívia R. Pereira, Rodrigo T. Neto, Artur MS Silva et Susana M. Cardoso, *Effets bénéfiques sur la santé des décoctions de Thymus herba-barona , Thymus pseudolanuginosus et Thymus caespititius*, 2017.
- Benabid A. *Flore et ecosystems du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Edition Ibis Press, 2000, pp : 159-161.*
- Sadou Nina, Seridi Ratiba, Hamel Tarek. *Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Thymus ciliatus ssp. coloratus from Annaba-Algeria*, 2016, pp: 180-185.
- Avantika Pandey, Madhoolika Agrawal and Shashi Bhushan Agrawal. *Ultraviolet-B and Heavy Metal-Induced Regulation of Secondary Metabolites in Medicinal Plants: A Review*, 2023.
- Vincent Ninkuu, Lin Zhang, Jianpei Yan, Zhenchao Fu, Tengfeng Yang, and Hongmei Zeng, *Biochemistry of Terpenes and Recent Advances in Plant Protection*, 2021.
- Verpoorte R. et Alfermann A.W. *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*; Ed: KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, 2000.
- Meng-Ling Shih et John A. Morgan. *Metabolic flux analysis of secondary metabolism in plants*, 2020.
- Sam Zwenger et Chhandak Basu. *Plant terpenoids: applications and future potentials*, 2008.
- Laura A. de la Rosa, Jesús Omar Moreno-Escamilla, Joaquín Rodrigo-García, Emilio Alvarez-Parrilla, *Physiologie post-récolte et biochimie des fruits et légumes*, 2019.
- Hamad H. Al Mamari. *Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis*, 2021.

- Maria de Lourdes Reis Giada. Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power, 2013.
- Wenli Sun et mohamad hesam shahrajabian. Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Health Products for Human Health, 2023.
- Pandey et Rizvi, Kanti Bhooshan Pandey et Syed Ibrahim Rizvi. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, 2009.
- Rehab A. Hussein and Amira A. El-Anssary Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants, 2018.
- Najla Bentradi, Asma Hamida-Ferhat. Date palm fruit (*Phoenix dactylifera*): Nutritional values and potential benefits on health, 2020.
- Harley D. Naumann, James P. Muir, Barry D. Lambert, Luis O. Tedeschi, Merwyn M. Kothmanne, Condensed Tannins In The Ruminant Environment: A Perspective On Biological Activity, 2013.
- Derek J. McPhee, Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases, 2020.
- Taito O. Soine, Naturally Occurring Coumarins and Related Physiological Activities, 1964.
- Richard O'Kennedy. Studies on Coumarins and Coumarin-Related Compounds to Determine their Therapeutic Role in the Treatment of Cancer, 2004.
- Ioannis A Stringlis, Ronnie de Jonge, et Corn M J Pieterse, The Age of Coumarins in Plant–Microbe Interactions, 2019.
- Francesca Annunziata, Cecilia Pinna, Sabrina Dallavalle, Lucia Tamborini and Andrea Pinto) An Overview of Coumarin as a Versatile and Readily Accessible Scaffold with Broad-Ranging Biological Activities, 2020.
- Judy L Bolton and Tareisha Dunlap Formation and Biological Targets of Quinones: Cytotoxic versus Cytoprotective Effects 2017.
- Bruno Casciaro, Laura Mangiardi, Floriana Cappiello, Isabella Romeo, Maria Rosa Loffredo, Antonia Iazzetti, Andrea Calcaterra, Antonella Goggiamani, Francesca Ghirga, Maria Luisa Mangoni, Bruno Botta, and Déborah Quaglio, Naturally-Occurring Alkaloids of Plant Origin as Potential Antimicrobials against Antibiotic-Resistant Infections, 2020.
- Bruneton. J., Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3e édition, Edition Lavoisier TEC et DOC, 1999.
- Camille Migdal et Mireille Serres, Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant Med Sci (Paris), 2011.

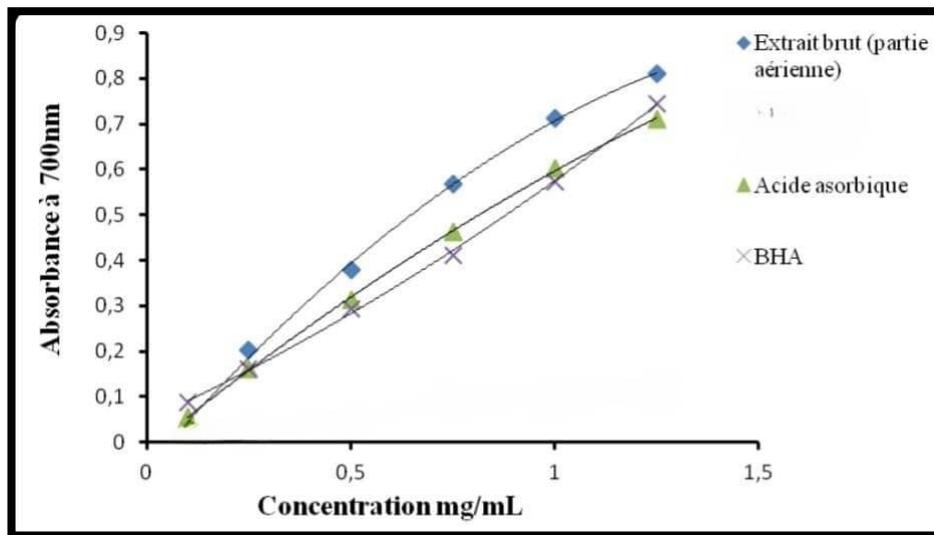
- V. Lobo, A. Patil, A. Phatak et N. Chandra, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, 2010.
- Lien Ai Pham-Huy, Hua He et Chuong Pham-Huy, Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, 2008.
- foncJ. Haleng, J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Charlier, J.P. Chapelle. Le stress oxydant, 2007, pp : 628-638.
- Cano N., Barnoud D., Schneider SM., Vasson MP., Hasselmann M., Leverve X. Traité de nutrition artificielle de l'adulte 3ème édition, XVII, 2007, pp 1189.
- Subbroto Kumar Saha, Soo Bin Lee, Jihye Won, Hye Yeon Choi, Kyeongseok Kim, Gwang-Mo Yang , Ahmed Abdal Dayem et Ssang-goo Cho. Correlation between Oxidative Stress, Nutrition, and Cancer Initiation, 2017.
- Favier, A. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Actualité en chimie, 2003, pp 108-115.
- Barry Halliwell, Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life, 2006.
- Monique Gardès-Albert, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh et Daniel Jore. Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique. 2003, pp: 91-96.
- Emad M. Atta, Nawal H. Mohamed and Ahmed A. M. Abdelgawad, ANTIOXIDANTS: AN OVERVIEW ON THE NATURAL AND SYNTHETIC TYPES. 2017, PP : 365-375.
- Valéria Cristina Ramalho et Neuza Jorge, ANTIOXIDANTES UTILIZADOS EM ÓLEOS, GORDURAS E ALIMENTOS GORDUROSOS, 2006, PP : 755-760.
- T.M. Chaouche, F. Haddouchi, R. Ksouri, F. Medini, F. Atik-Bekara In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus Pharmacognosie Article original, 2013, pp:244-249,
- Etsuo Niki, Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo 2010, PP: 503-515.
- Magalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties, Analytica Chimica Acta, 2008, Vol.613; pp 01–19.
- Jolanta Flieger et Michał Flieger, The [DPPH●/DPPH-H]-HPLC-DAD Method on Tracking the Antioxidant Activity of Pure Antioxidants and Goutweed (Aegopodium podagraria L.) Hydroalcoholic Extracts 2020.
- Heloisa de S. Pitz, Aline Pereira, Mayara B. Blasius, Ana Paula L. Voytena, Regina CL Affonso, Simone Fanan, Adriana CD Trevisan, Rosa M. Ribeiro-do-Valle et Marcelo

Maraschin, In Vitro Evaluation of the Antioxidant Activity and Wound Healing Properties of Jaboticaba (*Plinia peruviana*) Fruit Peel Hydroalcoholic Extract, 2016.

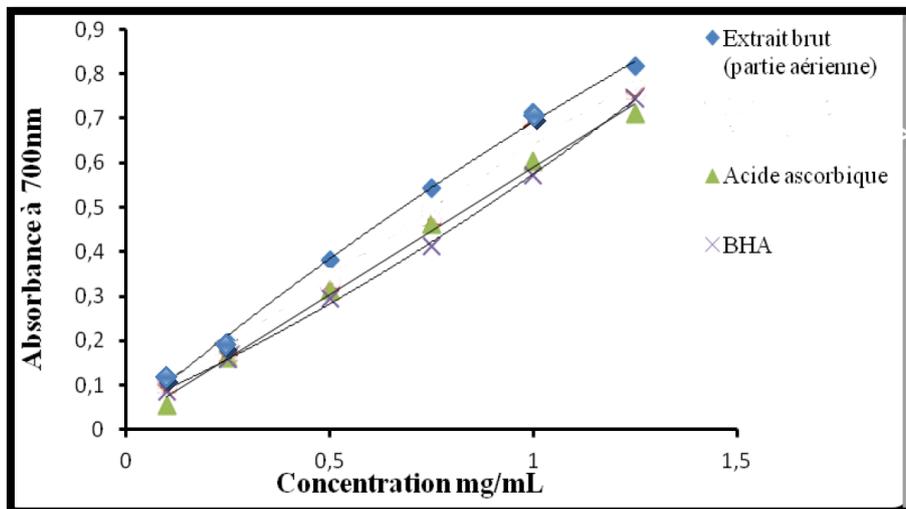
- N. Bentabet, Z. Boucherit-Otmani, K. Boucherit Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie Article original Pharmacognosie 2014.
- Karolina A. Wojtunik-Kulesza, Approach to Optimization of FRAP Methodology for Studies Based on Selected Monoterpenes, 2020.
- Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A., Evstatieva, L.N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochem Anal*, 2001, Vol.13; pp 08-17.
- Laguerre, M., López-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante, *Fondamental, OCL*, 2007 Vol.14 (5) ; pp 278-292.
- Hama Hamadou Habibou, Moussa Idrissa, Ikhiri Khalid, Ouedraogo Benjamin, Adamou Rabani. Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr, 2019.
- Ana C. Gonçalves, Catarina Bento, Fábio Jesus, Gilberto Alves, Luís R. Silva. studies in natural products chemistry Chapter 2 - Sweet Cherry Phenolic Compounds: Identification, Characterization, and Health Benefits, 2018 volume 59, PP: 31-78.
- Khalida Mokhtari, Amalia Pérez-Jiménez, Leticia García-Salguero, José A. Lupiáñez et Eva E. Rufino-Palomares. Unveiling the Differential Antioxidant Activity of Maslinic Acid in Murine Melanoma Cells and in Rat Embryonic Healthy Cells Following Treatment with Hydrogen Peroxide, 2020.
- Neeraj K Garg, Sharad Mangal, Tejram Sahu, Abhinav Mehta, Suresh P Vyas, et Rajeev K Tyagi. Evaluation of anti-apoptotic activity of different dietary antioxidants in renal cell carcinoma against hydrogen peroxide, 2011.
- Shon, M., Lee, J., Choi, J., Choi, S., Nam, S., Seo, K., Lee, S., Sung, N., Park, S., Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of chungkukjang , *Journal of Food Composition and Analysis*, 2007, Vol.20; pp 113-118.
- Alam Zeb. Effects of β -carotene on the thermal oxidation of fatty acids, 2011.
- Kubola, J., Siriamornpun, S. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf stem and fruit fraction extracts in vitro, *Food Chemistry*, 2008, Vol. 110; pp 881-890.

ANNEXES

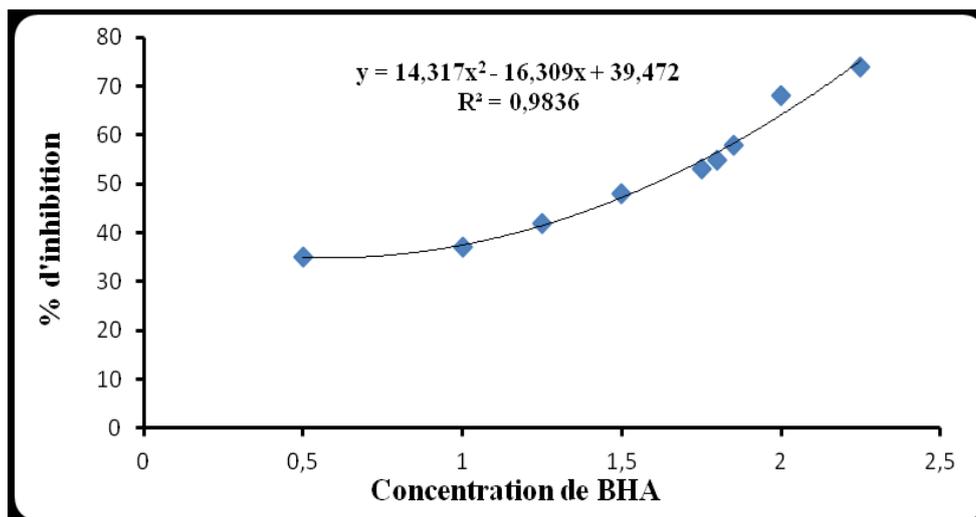
Annexe 1 : Figure: extrait brut de la partie aérienne, de BHA et de l'acide ascorbique de ssp coloratus.



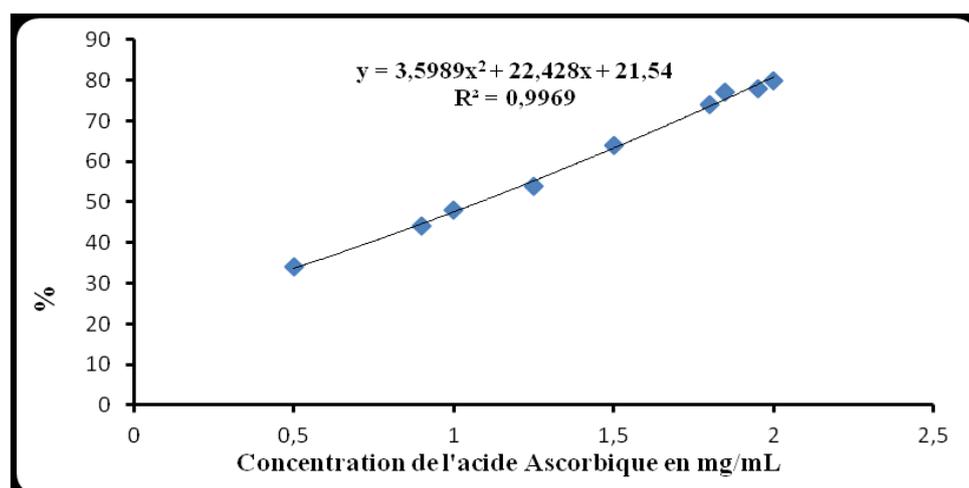
Annexe 2 : Figure : extrait brut de la partie aérienne, de BHA et de l'acide ascorbique de ssp euciliatus.



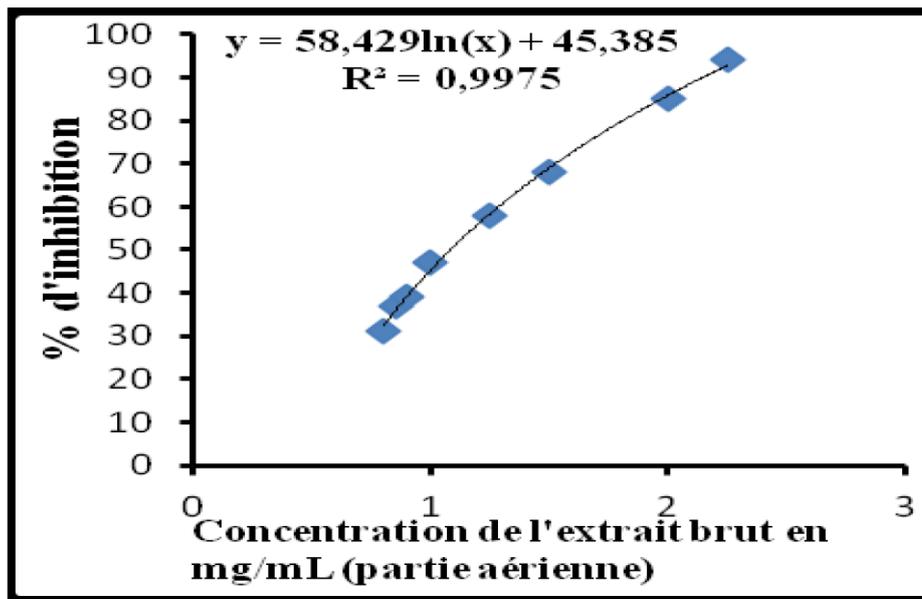
Annexe 3 : Figure : Variation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BHA utilisée.



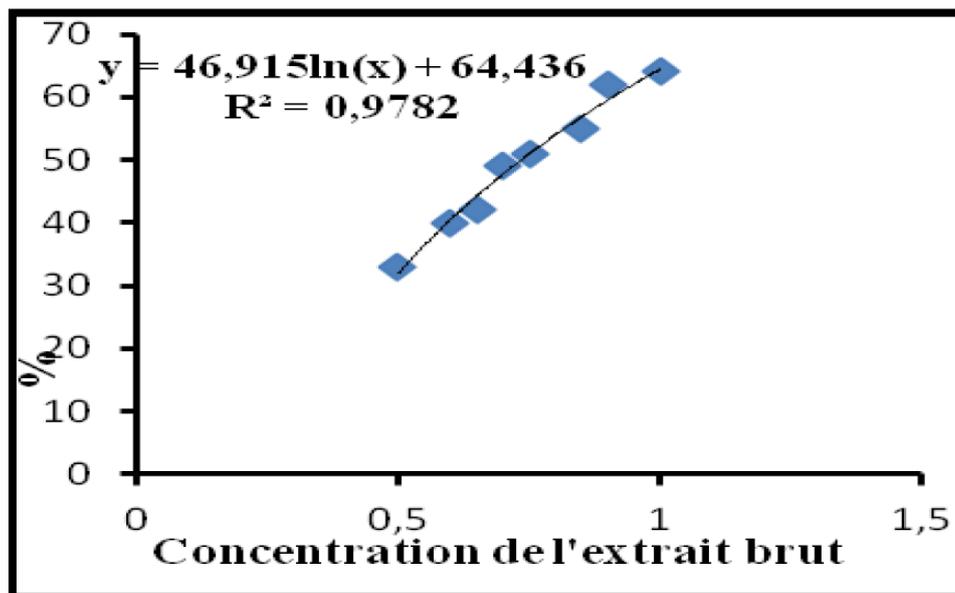
Annexe 4 : Figure: Variation des pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique utilisées.



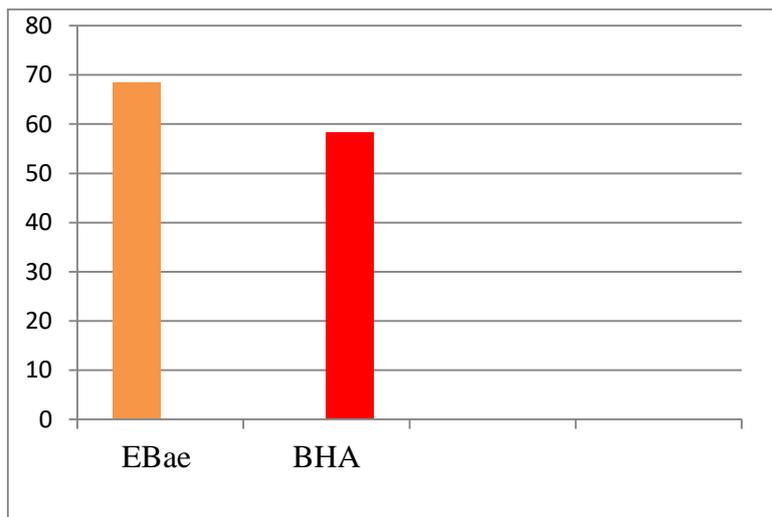
Annexe 5 : Figure: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait brut de la ssp coloratus



Annexe 6 : Figure : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH pour l'extrait brut de la ssp euciliatus.



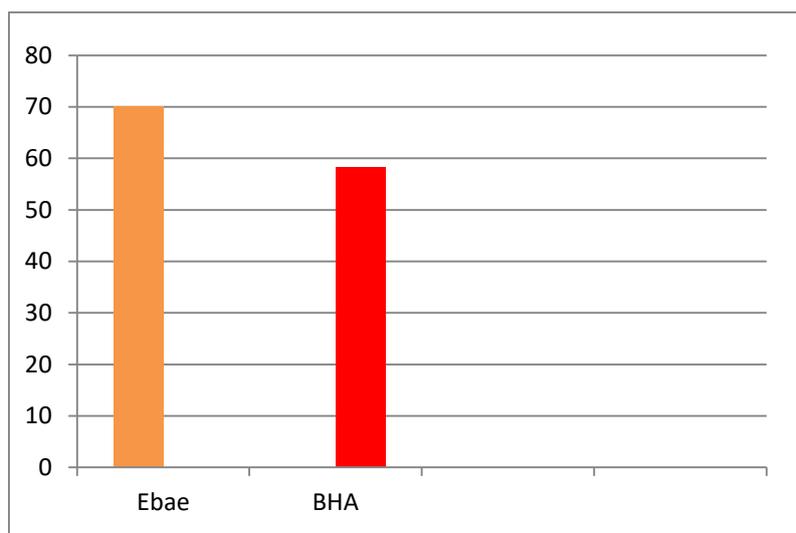
Annexe 7 : Figure : Histogramme des pourcentages de piégeage peroxyde d'hydrogène pour l'extrait étudié comparé à BHA pour la ssp coloratus au temps initial (t=0).



EBae : Extrait brut de la partie aérienne.

BHA : Butylhydroxyanisol.

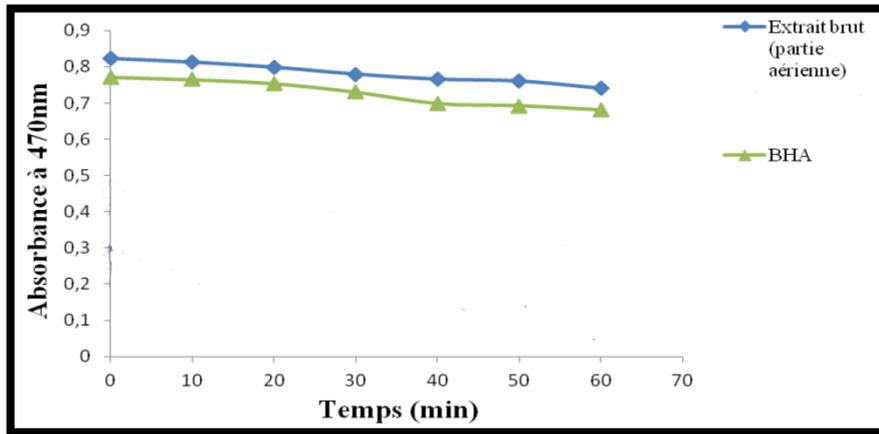
Annexe 8 : Figure : Histogramme des pourcentages de piégeage peroxyde d'hydrogène pour l'extrait étudié comparé à BHA pour la ssp *euciliatus* au temps initial (t=0).



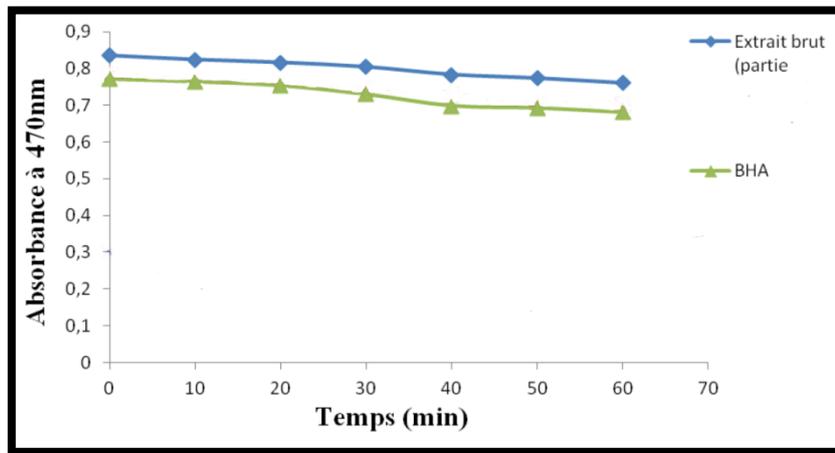
EBae : Extrait brut de la partie aérienne.

BHA : Butylhydroxyanisol.

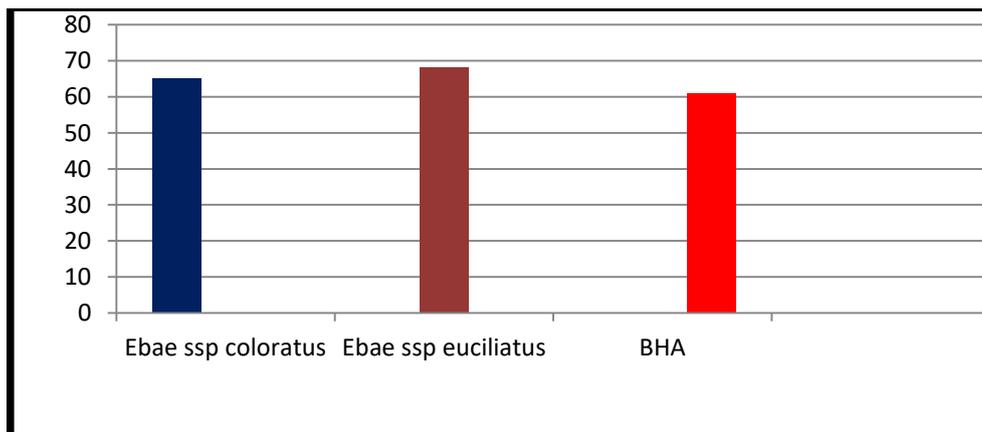
Annexe 9 : Figure: la cinétique de la décoloration de β -carotène induite par l'extrait brut de la partie aérienne de la ssp *coloratus*.



Annexe 10 : Figure : la cinétique de la décoloration de β -carotène induite par l'extrait brut de la partie aeriene de la ssp euciliatus



Annexe 11 : Figure: Pourcentage d'inhibition de la décoloration de la β -carotène



Ebae : Extrait brut de la partie aeriene.

BHA : Butylhydroxyanisol.

Annexe 12: Figure : Pourcentage d'inhibition de la décoloration de la β -carotène.