

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان  
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN  
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers  
Département de biologie



## MEMOIRE

Présenté par

**Ayhar Amani**

**Yacoubi Soufiane**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Sciences biologique

Option : Infectiologie

### Thème

**Evaluation de l'activité biologique de l'extrait hydro-méthanolique de *Thymus ciliatus***

Soutenu le 23/06/2022, devant le jury composé de :

Présidente	MEDJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen
Encadrant	BOUALI Waffa	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	ALLIOUA Meryem	MCA	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2021/2022**

## ملخص :

غالبًا ما يستخدم المكون الفعال المستخرج من النباتات الطبية في الطب البديل، التجميل وصناعة الأغذية ، مما يمنحه نشاطًا مهمًا للغاية كمضاد للأكسدة.

من أجل معرفة أنشطة النباتات الطبية المستخدمة تقليديا من قبل السكان، ركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للأكسدة للجزء العلوي من الزعيترة بواسطة تقنية FRAP لارجاع الحديد.

تم استخلاص الاجزاء العلوية من النبتة في محلول الماء والميثانول (30 70)(ح\ح) ثم تجزئة السائل مع اسيتات الاثيل.

اظهر تقييم مضادات الاكسدة بواسطة تقنية ارجاع الحديد FRAP ان الجزء المائي له نشاط افضل مقارنة بالجزء العضوي والمستخلص الخام مع EC<sub>50</sub> بنسبة 0.465 مجم / مل ، 1.97 مجم / مل و 2.382 مجم / مل على التوالي.

في الختام ، يقدم هذا النبات نشاطًا مثيرًا للاهتمام كمضاد للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:**الزعيترة, مضاد للأكسدة,FRAP,النباتات الطبية.

## Résumé

Le principe actif extrait des végétaux est souvent utilisé dans la médecine alternative, production cosmétique et le domaine agroalimentaire, ce qui lui confère une activité antioxydante très importante.

Dans le but de connaître les activités des plantes médicinales utilisées traditionnellement par la population, notre travail a porté sur l'évaluation de l'activité antioxydante de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* par la technique réduction de fer FRAP.

La plante a été soumise à une extraction par infusion dans l'eau- méthanol (30/70) suivie d'un fractionnement liquide-liquide par l'acétate d'éthyle. L'évaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de réduction du fer FRAP a révélé que la fraction aqueuse présente une meilleure activité par rapport à la fraction organique, et à l'extrait brut avec des  $EC_{50}$  de 0,465 mg/ml, 1, 97 mg/ml et de 2.382 mg/ml, respectivement.

En conclusion, cette plante présente une activité antioxydante intéressante.

**Mots clés :** *Thymus ciliatus*, pouvoir antioxydant, FRAP, plantes médicinales.

### **Abstract :**

The active principle extracted from plants is often used in alternative medicine, cosmetic production and food industry, which gives it a very important antioxidant activity.

In order to know the activities of medicinal plants traditionally used by the population, our work focused on the evaluation of the antioxidant activity of the aerial part of *Thymus ciliatus* by the FRAP iron reduction technique.

The plant was subjected to extraction by infusion in water-methanol (30/70) followed by liquid-liquid fractionation by ethyl acetate. Evaluation of antioxidant capacity by FRAP iron reduction method revealed that the aqueous fraction showed better activity compared to the organic fraction, and the crude extract with EC<sub>50</sub> of 0.465 mg/ml, 1, 97 mg/ml and 2.382 mg/ml, respectively.

In conclusion, this plant presents an interesting antioxidant activity.

**Key words :** *Thymus ciliatus*, antioxidant power, FRAP, medicinal plants.

## **Remerciements :**

*En premier lieu **ALHAMDOLILLAH** pour nous avoir accordé le succès au cour de notre carrière universitaire.*

*Nous exprimons nos sincère gratitude et profonds remerciements à Mme **Bouali Wafaa** maitre de conférences A Département de Biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid d'avoir accepté de nous encadrer et de guider ce travail avec une grande rigueur scientifique et pour ses encouragements, ses conseils et ses précieuses orientations qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long dans notre travail.*

*Avec toutes gratitude et de respect les plus sincères :*

*Nous tenons remerciements à Mme **Medjdoub Houria** maitre de conférences B au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, qui nos fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance*

*Nos vifs remerciements s'adressent à Mme **Allioua Meryem** d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer à la soutenance de ce mémoire.*

*Nous remercions à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace :*

*Je dédie ce modeste travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :*

*Mes parents, qui je ne saurai jamais de les remercier comme il Doit grâce à leur amour, leur dévouement, leur compréhension et leur patience sans jamais nous quitter des yeux ni baisser les bras et leurs soutien moral et matériel, je ne saurais jamais traduire ce que je ressens vraiment envers eux.*

*Mes sœurs et frères Que Dieu leur apporte le bonheur, les aide à réaliser tous leurs vœux et leur offre un avenir plein de succès.*

*La famille **Abdelli**, mes oncles et mes tantes, pour votre soutien, aides, générosité et encouragements durant ces années d'études et tout ma vie, Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.*

*Je dédie tout particulièrement ce travail à ma chère grande mère **Kheloufi Zohra** pour ses prières à mon égard, ses conseils précieux Puisse Dieu te donne santé, bonheur Que dieu te garde pour nous.*

*À la meilleur, Mme **Wafaa bouali** Pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs.*

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

*Amani.*

## *Dédicace :*

*Dédicace À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre..*

*À cette source de tendresse, de patience et de générosité...*

*À ma mère et mon père !*

*À mes beaux-parents et à toute ma famille*

*À tous mes amis et collègues À tous les étudiants de la promotion*

*A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer ...*

*Soufiane.*

### Liste des abréviations :

**MPUP** : matières premières à usage pharmaceutique.

**AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché.

**Ssp** : sous-espèce.

**S. epidermidis** : Staphylococcus epidermidis.

**S. saprophiticus** : Staphylococcus saprophyticus.

**S. aureus** : Staphylococcus aureus.

**T.ciliatus** : thymus ciliatus.

**H.E.** : huile essentielle.

**EOA** : espèces oxygénées activées.

**O<sub>2</sub>** : oxygène.

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène.

**ADN** : acide désoxyribonucléique.

**NADP** : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

**H** : hydrogène.

**-OH** : radical hydroxyle.

**Mn** : manganèse.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : le peroxyde d'hydrogène.

**Fe** : fer.

**SOD** : superoxyde dismutase.

**-SH** : groupement sulphhydryle.

**MDA** : malondialdehyde.

**4HNE** : 4-hydroxynonéal.

**POX** : peroxydases.



**RO<sub>2</sub>** : radicaux peroxy.

**Asc<sup>•-</sup>** : radical ascorbyle.

**FRAP** : Ferric reducing-antioxidant power.

**T°** : température.

**C** : Celsius.

**V/V** : volume/ volume.

**K<sub>3</sub>Fe** : ferricyanure de potassium.

**TCA** : l'acide trichloracétique.

**FeCl<sub>3</sub>** : chlorure ferrique.

**R** : rendement en pourcentage %.

**M<sub>2</sub>** : la masse de la boîte pétrie après séchage (contient l'extrait) en gramme.

**M<sub>1</sub>** : la masse de la boîte pétri vide en gramme.

**P** : 10g (poids de matériel végétal prise d'essai).

**Fe<sup>3+</sup>** : fer ferrique.

**Fe<sup>2+</sup>** : fer ferreux.

**nm** : nanomètre.

**IC<sub>50</sub>** : concentrations efficaces.

## Liste des figures :

<b>Figure 01 :</b> Caractères morphologiques et anatomiques des Luminacées.....	6
<b>Figure 02 :</b> Répartition géographique de thym dans le monde <i>Thymus ciliatus</i> .....	7
<b>Figure 03 :</b> <i>Thymus ciliatus</i> .....	8
<b>Figure 04:</b> Les processus de formation des ERO.....	13
<b>Figure 05:</b> Les différentes étapes de la peroxydation lipidique.....	14
<b>Figure 06 :</b> <i>Thymus ciliatus</i> .....	18
<b>Figures 07 :</b> Mélange (A), Infusion (B), Filtration (C).....	19
<b>Figure 08 :</b> Evaporation par le Rotavapor (élimination de méthanol).....	19
<b>Figure 09 :</b> Extraction liquide-liquide et formation des deux phases.....	20
<b>Figure 10 :</b> Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur FRAP.....	22
<b>Figure 11 :</b> les trois extraits après séchage.....	24
<b>Figure 12 :</b> Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de <i>Thymus ciliatus</i> .....	25
<b>Figure 13 :</b> Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'extrait organique de <i>Thymus ciliatus</i> .....	25
<b>Figure 14 :</b> Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de <i>Thymus ciliatus</i> .....	26
<b>Figure 15 :</b> Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide ascorbique de <i>Thymus ciliatus</i> .....	26

**Liste des tableaux :**

**Tableau 01 :** Caractéristiques des extraits de la partie aérienne de *T. ciliatus*.....24

**Tableau 02 :** valeur des EC<sub>50</sub> des extraits de *Thymus ciliatus*.....27

## Table de matière

<b>Introduction général .....</b>	<b>01</b>
-----------------------------------	-----------

### **Partie 01 : synthèse bibliographique**

#### **Chapitre I : présentation de la plante étudiée : *Thymus ciliatus***

I. Plantes médicinales .....	03
I.1. Généralité .....	03
I.2. Phytothérapie.....	03
I.3. Modes de préparations.....	04
I.3.1 L'infusion.....	04
I.3.2 La décoction .....	04
I.3.3 La macération.....	05
I.3.4 Le cataplasme.....	05
II. Présentation de <i>Thymus ciliatus</i> .....	05
II.1. Historique .....	05
II.2. Présentation de la famille de lamiaceae .....	05
II.3. Donnés botanique .....	06
II.4. Position systématique .....	07
II.5. Nomenclature .....	08
II.6. Description de <i>Thymus ciliatus</i> .....	08
II.7. Usage et activité biologique .....	09
II.7.1. Activité antioxydante .....	09
II.7.2. Activité antimicrobienne .....	09
II.7.3. Activité Antiseptique .....	09
II.7.4. Activité anticholinestérase .....	09
II.8. Huiles essentielles .....	09

II.9. Toxicité de huiles essentielles .....	10
---	----

## Chapitre II : Stress oxydant

I. Le stress oxydatif .....	11
I.1. Définition .....	11
II. Espèces réactives oxygénées .....	11
II.1. Les radicaux libres .....	11
II.1.1. Radical superoxyde $O^{2\cdot-}$ .....	11
II.1.2. Radical perhydroxyle $HO^{2\cdot}$ .....	12
II.1.3. Radical hydroxyle $OH\cdot$ .....	12
II.1.4. Radical peroxyde $RO^{2\cdot}$ .....	12
II.2. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaires.....	12
II.2.1. Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).....	12
II.3. Formation des ERO.....	12
III. Les conséquences du stress oxydatif.....	13
III.1. L'oxydation de l'ADN.....	13
III.2. L'oxydation des protéines.....	14
III.3. L'oxydation des lipides .....	14
III.4. Les maladies liées au stress oxydatif.....	15
IV. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif.....	15
IV.1. Les antioxydants endogènes.....	15
IV.1.1. La superoxyde dismutase.....	15
IV.1.2. La catalase.....	15
IV.1.3. La glutathion Peroxydase.....	16
IV.1.4. Les chélateurs de métaux.....	16
IV.2. Les antioxydants exogènes.....	16
IV.2.1. Les vitamines.....	16
La vitamine E.....	16

La vitamine C.....	16
IV.3. Antioxydants d'origine végétale.....	17

## **Partie 02 : Partie Expérimentale**

### **Matériels et Méthodes**

I. Objectif .....	18
II. Matériel végétal.....	18
II.1. Choix de la plante.....	18
II.2. Provenance de T. ciliatus.....	18
III. Extraction.....	19
III.1. Préparation des extraits.....	19
III.2. Rendement.....	20
IV. Test de la réduction de chlorure ferrique (Test Ferric reducing-antioxidant power, FRAP).....	21
IV.1. Solutions à préparer.....	21
IV.2. Principe de la méthode.....	21
IV.3. Mode opératoire.....	23

### **Résultats et interprétations**

I. Extraction.....	24
I.1. Rendements.....	24
II. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP.....	24
II.1. Effets de l'extrait hydro-méthanolique brute.....	25
II.2. Effet de l'extrait organique.....	25
II.3. Effet de l'extrait aqueux.....	26
II.4. Effet de l'acide ascorbique.....	26
<b>Discussion.....</b>	<b>28</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>30</b>
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>31</b>

# Introduction Générale

De part sa situation géographique particulière, l'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, le Sahara et est auteur de points d'eau (**Kholkhal, 2014**), chacune de ces plantes peut contenir des centaines voire des milliers de métabolites secondaire, ou de principes actif qui peuvent produire différentes actions physiologique sur le corps humain (**Benchikhi,2017**).

Du fait de leurs abondances dans la nature et de leurs utilisations par les populations locales pour se soigner, certaines plantes se sont imposées dans le monde médicinal (**Kholkhal, 2014**).

La médecine traditionnelle réunit l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques basées sur les théories, croyances et expériences auxquelles différentes cultures ont recours pour entretenir la santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, soulager ou soigner des maladies physiques et mentales (**OMS, 2009**).

Ces dernières années, le recours à la médecine traditionnelle s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité, une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme captateurs de radicaux libres, les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt dans le traitement de certaines pathologies, ils sont aussi utilisés pour la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire (par exemple empêcher l'oxydation des lipides) (**Pan et al., 2008**).

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives.

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antioxydante de l'extrait d'une plante aromatique, *Thymus ciliatus* qui appartient à la famille des Lamiacées, provenant de région de « Tlemcen ».

La famille des lamiacées connue également sous le nom des Labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal (**Aouina et Lakhdari, 2019**).

La sélection de cette plante est motivée par le fait qu'elle est parmi les plantes aromatiques les plus populaires utilisée dans le monde entier, le présent travail est une contribution dans la



valorisation des principes actifs contenus dans la flore algérienne peu connue jusqu'à présent et est présenté comme suit:

- ✓ La première partie comporte une étude bibliographique sur la plante *Thymus ciliatus*, et ses caractères, les oxydants et les antioxydants.
- ✓ La deuxième partie comporte le travail expérimental, les résultats obtenus et la discussion.
- ✓ Enfin, la dernière partie concerne la conclusion finale et les perspectives de ce travail.

# Synthèse bibliographique

Chapitre I :  
Présentation de la  
plante étudiée *Thymus*  
*ciliatus*.

## I. Plantes médicinales

### I.1 Généralité

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes afin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine, d'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes, sachant que pour la synthèse d'un seul médicament 10000 molécules doivent être synthétisées et testées (**Jérome, 2006**).

L'activité thérapeutique des plantes médicinales provient non seulement de la présence de substances actives organiques (alcaloïdes, flavones, saponines ... etc.), mais aussi de bon nombre de vitamines et de minéraux, réel potentiel thérapeutique : potassium, calcium, manganèse, fer, cuivre, silice, zinc, fluor, phosphore, iode, nécessaires à un organisme sain et à plus forte raison à un organisme malade, bon nombre de plantes sont susceptibles de contribuer à leur apport, les minéraux ne se retrouvent pas en égale proportion au cours de la vie de la plante, certaines d'entre elles les sélectionnent pendant leur croissance et ont tendance à en concentrer quelques - uns, certaines parties de la plante sont plus spécifiquement concernées, c'est l'apport de sa partie active sous forme de poudre qui apporte le potentiel minéral maximum : c'est le totum de la plante (**Korib, 2017**).

L'emploi des plantes médicinales est multiple et doit être évalué selon la pathologie, son caractère aigu ou chronique, et en fonction des traitements pris par le patient, ces facteurs influent sur la décision du pharmacien d'intégrer une ou plusieurs plantes médicinales dans la prise en charge du patient, il faut pouvoir distinguer dès le départ si le patient requiert une prise en charge pour une pathologie aiguë ou chronique, cependant, la tendance actuelle qui soutient que le produit de phytothérapie peut remplacer un traitement allopathique en raison de leur effet pharmacologique similaire est souvent une vision trop simpliste de la prise en charge thérapeutique du patient (**Limonier, 2018**).

### I.2 Phytothérapie

Étymologiquement, le terme « phytothérapie » se décompose en deux termes distincts qui sont « phuton » et « therapeia » et qui signifient respectivement « plante » et « traitement » de par leur racine grecque (**Chabrier, 2018**).

La phytothérapie est donc une thérapeutique destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen de plantes, des parties de plantes et des préparations à

base des plantes, c'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations (**Limonier, 2018**).

Ce savoir empirique s'est ensuite transformé en analyse botanique pour déterminer par quel mécanisme d'action les plantes pouvaient agir, et quelles étaient les molécules ou les constituants responsables de cet effet thérapeutique, et une fois ces extraits actifs isolés et standardisés, ont pu émerger les phyto-médicaments, produits soumis à une AMM, et à des réglementations sur l'MPUP pour les préparations magistrales à base de plantes médicinales délivrées exclusivement en officine, c'est donc la pharmacognosie, c'est-à-dire l'étude botanique de la plante et de ses principes actifs (**Gruffat, 2017**).

Aujourd'hui la phytothérapie se décline sous plusieurs formes en fonction de la méthode d'extraction de la drogue végétale :

- Les tisanes.
- Les formes sèches : gélules et comprimés à avaler.
- Les formes liquides : sirops, macérats, teintures et extraits fluides.
- Les pommades, crèmes et onguents (**Gruffat, 2017**).

### **I.3 Modes de préparations**

#### **I.3.1 L'infusion**

Se fait généralement avec les fleurs et les feuilles des plantes, mais dans certains cas, il est possible de faire également infuser des racines et des écorces, le principe est simple versez de l'eau bouillante sur la plante (il faut compter une cuillerée à café de plante par tasse), et vous laissez infuser entre dix et vingt minutes, une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum, en principe il est préférable de ne pas sucrer les tisanes (**Sofowora, 2010**).

#### **I.3.2 La décoction**

Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines de la plante, comme les racines, et aux écorces, qui libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion, la réglisse, les racines de ginseng, sont fréquemment utilisées en décoction, cette méthode consiste à extraire les propriétés des plantes en les laissant « infuser » dans de l'eau portée ensuite à ébullition, comptez une cuillerée à soupe de plantes par tasse, il faut déposer les plantes dans une casserole, portez ensuite à ébullition, et laissez le tout mijoter sur le feu pendant une vingtaine de minutes jusqu'à ce que le liquide ait réduit d'un tiers, retirez du feu, puis laissez

infuser (et refroidir) pendant une heure, avant de filtrer, vous pouvez conserver une décoction pendant trois jours au réfrigérateur (**Pierre et Lis, 2007**).

### **I.3.3 La macération**

Selon (**S. Nogaret-Ehrhart, 2003**), la macération consiste à maintenir en contact la plante avec de l'eau potable à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 4 heures, ce mode de préparation s'applique tout particulièrement aux plantes mucilagineuses (racines de guimauve ...).

La macération à l'huile froide : cette technique consiste à remplir de plantes un grand bocal en verre, puis à les couvrir d'huile.

La macération à l'huile chaude Pour fabriquer des crèmes, ou des huiles de massage, vous pouvez faire infuser les herbes dans de l'huile chaude, les huiles d'olive, d'amande douce sont conseillées.

### **I.3.4. Le cataplasme**

C'est le même principe que pour les compresses, à la différence que se sont ici les herbes qui sont directement utilisées, et non pas une infusion, les plantes sont hachées grossièrement, puis mises à chauffer dans une casserole, recouvertes d'un peu d'eau, puis laissez frémir deux à trois minutes (**Nogaret-Ehrhart, 2003**).

## **II. Présentation de *Thymus ciliatus***

### **II.1. Historique**

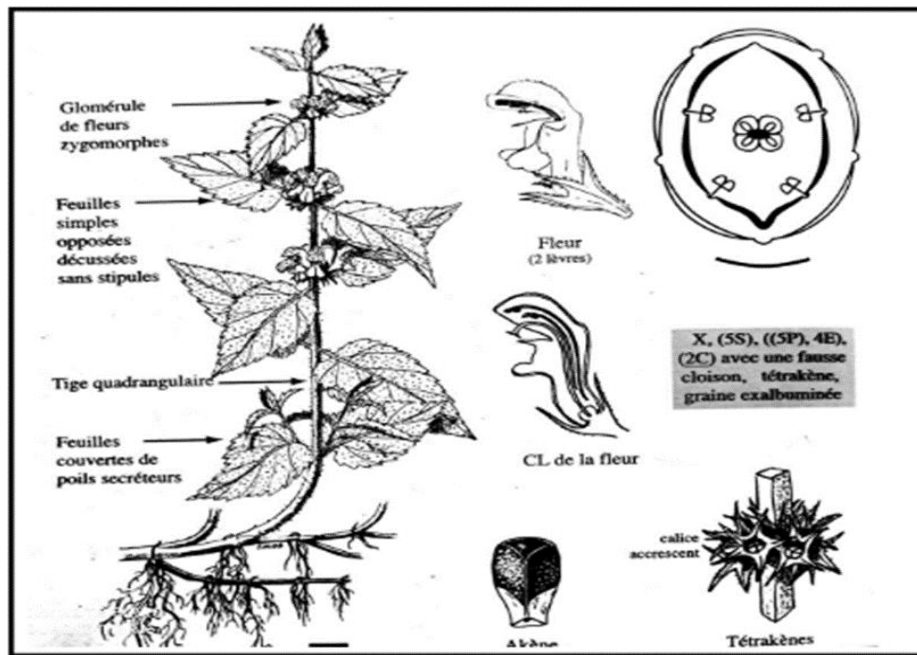
Les grecques brûlaient cette herbe pour chasser les insectes piqueurs de la maison, le thym représentait le style et l'élégance des premiers Grecs, la chevalerie au Moyen Âge et l'esprit républicain en France, au début du Moyen Age, les moines bénédictins apportaient Le Thym en Europe centrale et en Angleterre car ils pensaient que les oreillers à thym soulageaient l'épilepsie et la Mélancolie, du temps des Egyptiens, le thym est utilisé pour embaumer les morts, les Romains, de leur part brûlaient le thym pour éloigner les créatures venimeuses, et s'en servaient aussi pour aromatiser le fromage (**Charles, 2013**).

### **II.2. Présentation de la famille de lamiaceae**

La famille des lamiaceae (labiées) du latin labia (lèvre) signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres, est une famille importante appartenant aux angiospermes

dicotylédones, qui comprend près de 7000 espèces réparties en 250 genres plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale, dans la flore de l'Algérie, les Lamiaceae sont représentées par 28 genres et 146 espèces, certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (**Khelifi et Medjani, 2018**).

Ces plantes sont traditionnellement utilisées dans les remèdes naturels contre : l'asthme, l'ingestion, les maux de têtes et le rhumatisme.



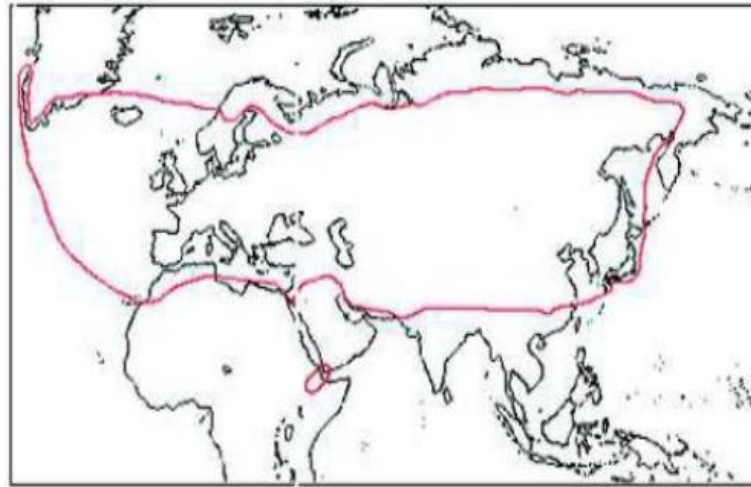
**Figure 01** : Caractères morphologiques et anatomiques des Luminacées (**Sahoua, 2021**)

### II.3. Données botanique

Le thym est un petit arbrisseau, formé de touffes compactes de 10 à 30 cm de hauteur, ses tiges sont ramifiées, sessiles, petites et étroites de forme lancéolée, de couleur bleu vert. Les fleurs réunies en épis au sommet des branches ont un calice tubuleux se terminant par deux lobes, le lobe inférieur comporte deux dents allongées et une corolle également tubuleuse et bilabée dont la lèvre supérieure est entière et la lèvre inférieure découpée en trois petits lobes, le fruit est formé de quatre akènes marrons et presque ronds (**Spichiger et al., 2004**).

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique, le genre *thymus* de la famille des Lamiacées ou Labiées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides, il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui se prêtent

pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement (Saidj, 2006).



**Figure 02** : Répartition géographique de thym dans le monde (Stahl-biskup,2002)

#### II.4. Position systématique

En 1963, **Quezel et Santa** ont désigné plus de 100 espèces de plantes aromatiques appartenant à la famille des labiées, le *Thymus ciliatus* est une -espèce qui appartient à:

Embranchement.....Phanérogames  
Sous Embranchement..... Angiospermes  
Classe..... Dicotylédones  
Sous Classe..... Gamopétales  
Série ..... Gamopétales Hypogynes  
Sous Série..... Division Bicarpétalées  
Ordre.....Tubiflorales  
Sous Ordre..... Lamiales  
Famille..... Labiées  
Tribu..... Saturiés  
Genre..... *Thymus*  
Espèce .....*ciliatus*  
Genre-espèce.....*Thymus ciliatus*  
Ssp ..... *eu-ciliatus coloratus munbyanus*



## II.5. Nomenclature

- Nom vernaculaire : thym.
- Nom arabe : Zaitra, djertil.
- Nom anglaise : Thyme.

Le nom *Thymus* vient probablement du latin "*Thymus*" qui signifie « parfumé » ou du Grec "*Thymos*" qui signifie "courage" ou "force" (**Hardman et al., 2007**).

Le *Thymus* est couramment appelé thym ou serpolet, en Algérie, il est nommé Za-itra ou Za-ater en arabe et Azukni ou Tazuknite en berbère.

## II.6. Description de *Thymus ciliatus*

Le *Thymus ciliatus* est une espèce spontanée, c'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 (**Moussaoui et al., 2014**).

Elle se développe spontanément, caractérisée par une morphologie externe ciliée, elle est localisée au niveau du bassin méditerranéen et dans le nord de l'Algérie, les écologistes ont localisé sa présence au niveau de la wilaya de Tlemcen Terny, Sidi Djillali, on lui reconnaît également des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et digestives, ces propriétés biologiques et pharmaceutiques du thym sont en grande partie dues à la présence de substances actives telles que les flavonoïdes qui représentent une des plus grandes classes des produits naturels synthétisés par la plante (**Johnson, 1999**).



**Figure 03 :** *Thymus ciliatus*. (<http://www.florabeilles.org>).

## II.7. Usage et activités biologiques

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Thymus ciliatus* possède plusieurs propriétés biologiques :

### II.7.1. Activité antioxydante

Cette plante est riche en composés doués d'activité antioxydante tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion superoxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (**Bruneton, 2009**).

### II.7.2. Activité antimicrobienne

**Ben Sassi et al., (2007)** ont étudié l'activité antibactérienne de quatre extraits organiques (méthanol, acétate éthyle, acétone, chloroforme) de 23 plantes médicinales dont *Thymus ciliatus* contre 14 bactéries gram positif et gram négatif. Les résultats ont montré que l'extrait d'acétone est le seul qui montre une action inhibitrice contre trois types de bactéries: *S. epidermidis*, et *S. saprophiticus*, *S. aureus*.

### II.7.3. Activité Antiseptique

Son action antiseptique s'exerce également sur le système digestif et notamment en cas de diarrhée, il est aussi vermifuge utilisée aussi pour soigner les infections pulmonaires : l'asthme et la bronchite (**Khelifi et Medjani, 2018**).

### II.7.4. Activité anticholinestérase

Dans la Maladie d'Alzheimer, les cellules nerveuses se détériorent progressivement, surtout celles produisant de l'acétylcholine Les anti-cholinestérasiques diminuent l'activité de l'acétylcholinestérase, enzyme détruisant l'acétylcholine (**Nemati et al., 2017**).

## II.8. Huiles essentielles

La définition qui semble la plus universellement acceptée est la suivante : « Huile obtenue suite à l'extraction de la matière végétale à la vapeur d'eau », cette huile est composée d'un mélange des substances volatiles obtenues par co-distillation avec la vapeur d'eau, celle-ci libère des substances renfermées dans les glandes de la plante, à des températures plus basses que leur propre point d'ébullition grâce à la contribution de la pression partielle de la vapeur d'eau(**Garneau et al.,1996**).

Les huiles essentielles sont employées en aromathérapie pour préserver ou améliorer la santé et la beauté des êtres humains, elles peuvent être utilisées pour usage externe (inhalations, compresses, massages, bains aromatisés, soins des cheveux, diffusion d'arôme, etc.) ou interne (infusions, sirops, pastilles, etc.) (**Bentayeb et Djemmal, 2014**).

L'huile essentielle de *T. ciliatus* présente un polymorphisme chimique très important. En effet, **Benjilali et al., (1987)** ont montré que le profil chimique de 14 échantillons de *T. ciliatus* de différentes régions du Maroc est très variable.

La teneur et la nature des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à l'autre en fonction de l'origine des plantes : thymol (0,3-29,3 %), carvacrol (0,4-21,7 %), acétate d' $\alpha$ -terpényle (0-42,9 %), acétate de géranyle (0-21,7 %), butyrate de géranyle (0-26,7 %), camphre (0,4-28,4 %) et bornéol (0,1-31,6 %).

C'est le cas aussi pour *T. ciliatus* de l'Algérie, pour lequel **Giordani et al. (2008)** ont montré que l'huile essentielle de cette espèce originaire de Djebel Ansel est dominée par le thymol (60,52 %), alors que le carvacrol (72,4-80,3 %) est le constituant principal de huit provenances de *T. ciliatus* spp. *eu-ciliatus* de la région de Tlemcen (**Bousmahaet al., 2007**).

## II.9. Toxicité

Certaines substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances de synthèse, les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses comme la cannelle de ceylan, basilic exotique, menthe, clou de girofle, niaouli, thym à thymol, marjolaine, sarriette, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter en irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques, une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut, selon la sorte et la quantité générer une toxicité élevée voir un coma et même la mort (**Arrar et al., 2016**).

Aucune toxicité n'a été signalée à ce jour concernant le thym, lorsqu'il est utilisé aux doses préconisées. Toutefois, l'usage de son huile essentielle ne doit pas se faire sans prescription médicale (**Festy, 2017**).

# Chapitre II :

## Stress oxydant

## I. Le stress oxydatif

### I.1. Définition

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003).

En faveur des premières. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme, à long terme, ceci peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies liées au vieillissement comme les cancers ou les maladies cardio-vasculaires (Haleng, 2007).

## II. Espèces réactives oxygénées

Le dioxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique, mais nos cellules convertissent une faible partie de O<sub>2</sub> en métabolites potentiellement toxiques: les espèces réactives de l'oxygène (ERO) il existe plusieurs types d'ERO, radicalaires ou non-radicalaires, les ERO sont susceptibles de participer à la dégradation des biomolécules (lipides, protéines, ADN, glucose, ...) (Achat, 2014).

### II.1. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Boudjouref, 2011).

#### II.1.1. Radical superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>

Le radical superoxyde résulte de la réduction monovalente de l'oxygène, soit l'apport d'un électron à la molécule O<sub>2</sub>, cette réaction se fait dans les mitochondries lors de la respiration cellulaire, un autre site de production est le polynucléaire neutrophile, celui-ci utilise les ERO pour son activité phagocytaire, de plus, lors d'un stress (sepsis, ischémie...) des enzymes comme la NADPH-oxydase et la xanthine-oxydase peuvent produire des radicaux superoxydes (Guilloty, 2016).

### II.1.2. Radical perhydroxyle HO<sub>2</sub>•

Celui-ci est obtenu après protonation du radical superoxyde en milieu pH < 4,8, le radical perhydroxyle est plus réactif que le superoxyde car le potentiel standard d'oxydoréduction est plus élevé ainsi que ses constantes de vitesse, notamment vis-à-vis des acides gras polyinsaturés (acides linoléique, linoléinique, arachidonique) (Guilloty, 2016).

### II.1.3. Radical hydroxyle OH•

Il s'agit du radical le plus toxique, il n'a pas de rôle physiologique connu dans la chaîne respiratoire mitochondriale, le peroxyde d'hydrogène peut réagir directement avec des ions métalliques (fer ou cuivre) par la réaction de Fenton, il s'agit d'une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH• qui est le deuxième oxydant le plus puissant présent dans la nature après le Fluor (Briber, 2019).

### II.1.4. Radical peroxyde RO<sub>2</sub>•

La radiolyse ou l'irradiation de solvants comme l'éthanol (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) permet de générer des radicaux peroxydes (CH<sub>3</sub>CH(O<sub>2</sub>•) OH) (Briber, 2019).

## II.2. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaires

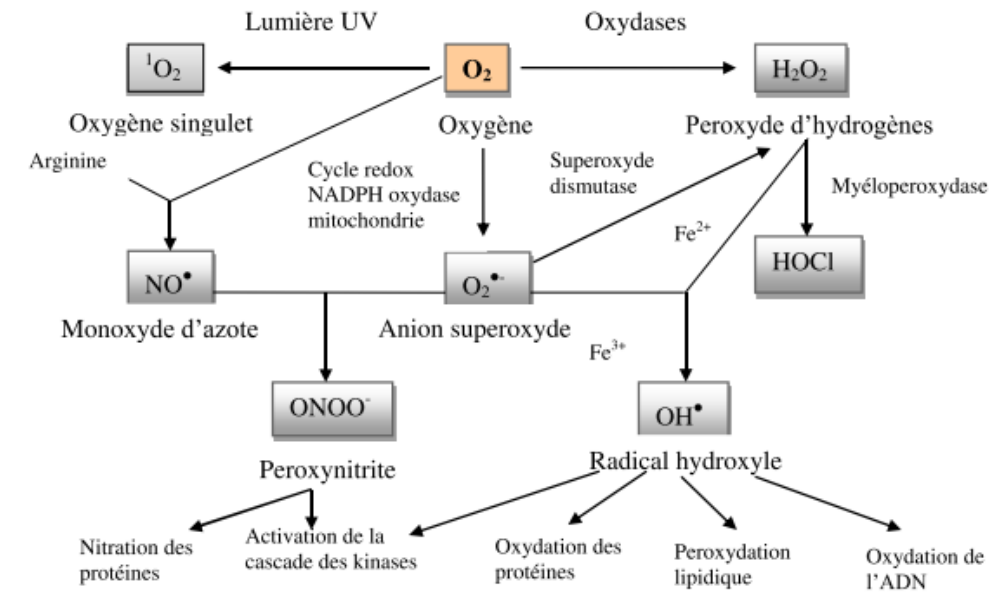
### II.2.1. Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Le peroxyde d'hydrogène est obtenu à partir de l'anion superoxyde par dismutation spontanée ou par l'enzyme superoxyde dismutase, le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est métabolisé par la glutathion peroxydase et la catalase, s'il existe une modification de ces enzymes antioxydantes, on peut observer l'arrivée d'un stress oxydatif. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'est pas un radical au sens propre mais permet la formation du radical hydroxyle en présence de métaux de transition (réactions de Fenton et d'Haber-Weiss), le radical hydroxyle est très toxique car très réactif et présente une grande probabilité de réagir à proximité immédiate de son lieu de production (Guilloty, 2016).

## II.3. Formation des ERO

La cellule génère divers types d'ERO qui réagissent selon trois modes d'action, soit en arrachant un électron ou un atome d'hydrogène, soit encore en s'additionnant sur les doubles liaisons carbone-carbone (Prigent *et al.*, 2003).

Les différents processus de formation des ERO sont schématisés dans la figure ci-après:



**Figure 04:** Les processus de formation des ERO (Achat, 2014).

### III. Les conséquences du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques :

#### III.1. L'oxydation de l'ADN

L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. L'atteinte de l'ADN implique le franchissement préalable de toutes les barrières de défense mises en place par les végétaux, la potentialité de détoxication des cellules ou de l'organisme et enfin du potentiel des systèmes de réparation de l'ADN de l'organisme. Plusieurs altérations ont été observées : (Cotelle et Ferrard, 2001)

- ✓ Une formation de bases oxydées.
- ✓ Des sites abasiques qui sont une partie de l'ADN dépourvue d'une base purique ou pyrimidique et ayant perdu l'information génétique par rupture de la liaison entre une base et le désoxyribose.
- ✓ Des cassures au niveau des brins d'ADN.
- ✓ Des pontages « ADN-protéines », les lésions au niveau de l'ADN peuvent également provoquer des aberrations chromosomiques, c'est-à-dire un nombre ou une structure anormale des chromosomes

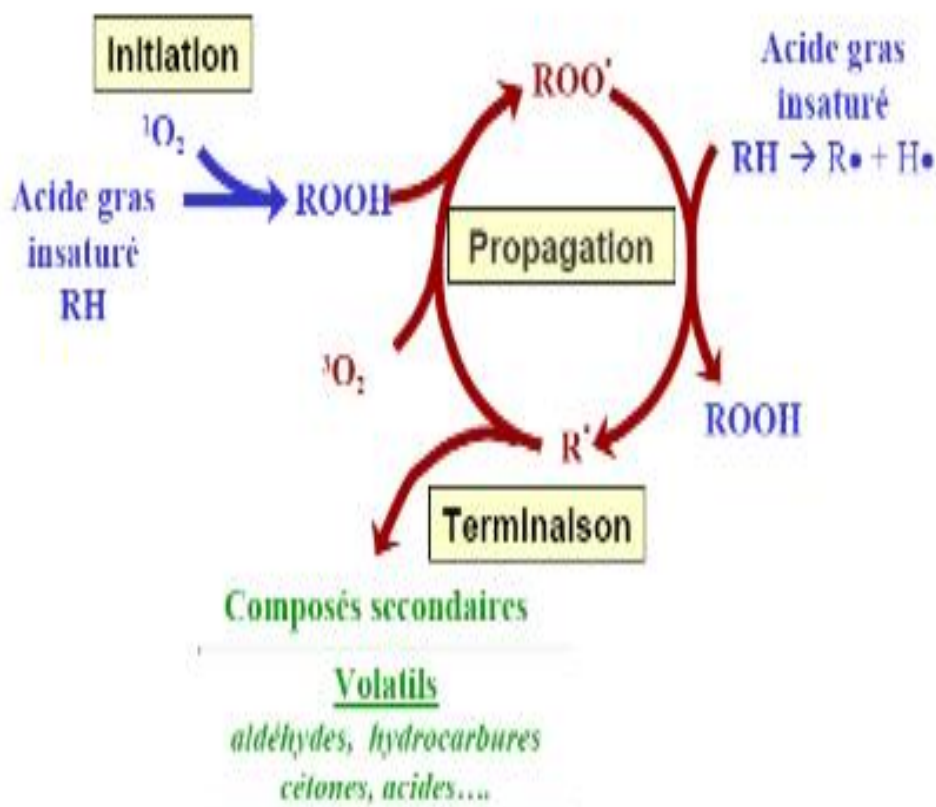
### III.2. L'oxydation des protéines

Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction, les protéines les plus touchées sont celles comportant un groupement sulphydyle (-SH), comme c'est le cas pour de nombreuses enzymes et protéines de transport (Stadtman et Levine, 2000).

### III.3. L'oxydation des lipides

Les lipides et, principalement, les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire représentent la première ligne attaquée par les ERO induisant des processus de peroxydations lipidiques et conduisant à la formation de plusieurs produits : aldéhydes, alkènes, hydroxyalkenols et d'autres incluant des composés utilisés comme marqueurs de la lipoperoxydation, c'est le cas du malondialdéhyde (MDA) et du 4-hydroxynonéal (4HNE), ce processus se déroule en trois phases : (Benahmed, 2010)

- ✓ Phase d'initiation.
- ✓ Phase de propagation.
- ✓ Phase de terminaison.



**Figure 05:** Les différentes étapes de la peroxydation lipidique (Benahmed, 2010).



### **III.4. Les maladies liées au stress oxydatif**

De nombreuses pathologies, impliquant le stress oxydant dans leur développement, ont été recensées. Outre les maladies cardio-vasculaires (oxydation des lipides) et le cancer (oxydation de l'ADN), c'est certainement dans le cadre du diabète (obésité, syndrome métabolique) que des avancées spectaculaires ont été réalisées au cours des dernières années (**Haleng, 2007**).

## **IV. Mécanismes de défense contre le stress oxydatif**

La plante réagit au stress en mettant en œuvre diverses stratégies de défense, constitutives ou induites. La plante perçoit un stimulus qui engendre l'émission de signaux, ceux-ci sont transmis à l'intérieur de la cellule déclenchant l'activation de gènes codant pour des enzymes du métabolisme secondaire pour synthétiser diverses molécules de défense, cette ligne de défense est constituée principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et les peroxydases (POX), ces enzymes agissent directement sur les espèces réactives, mais leur action est parfois insuffisante, des systèmes plus complexes entrent alors en jeu faisant intervenir, outre des enzymes spécialisées, des composés connus sous le nom d'antioxydants non enzymatiques (**Benahmed, 2010**).

### **IV.1. Les antioxydants endogènes**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes:

#### **IV.1.1. La superoxyde dismutase**

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super- oxyde  $O_2^{\bullet-}$  par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD<sub>1</sub> cytosolique, la Mn-SOD<sub>2</sub> mitochondriale et la Cu/Zn-SOD<sub>3</sub> (**Haleng, 2007**).

#### **IV.1.2. La catalase**

Le peroxyde d'hydrogène produit par la réaction de dismutation peut subir une réaction de Fenton, il ne faut pas donc qu'il s'accumule, c'est le rôle de la catalase, elle transforme deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables (**Boudjouref, 2011**).

### IV.1.3. La glutathion Peroxydase

La glutathion peroxydase est une enzyme qui constitue l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras, la glutathion peroxydase se trouve dans le cytoplasme et dans les mitochondries, elle nécessite la présence de deux cofacteurs importants: le glutathion réduit et le sélénium (**Boudjouref, 2011**).

### IV.1.4. Les chélateurs de métaux

Plusieurs protéines qui circulent dans le sérum peuvent prendre en charge des ions métalliques libres qui sont potentiellement toxiques, il s'agit de la transferrine et de la lactoferrine pour le fer et la céruléoplasmine pour le cuivre, elles agissent comme des chélateurs et maintiennent les ions métalliques sous forme inactive par rapport à la combinaison possible avec le peroxyde d'hydrogène (**Jacques et André, 2004**).

## IV.2. Les antioxydants exogènes

### IV.2.1. Les vitamines

#### ✓ La vitamine E

La vitamine E ou  $\alpha$ -tocophérol, est un antioxydant liposoluble, elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines, le rôle essentiel de la vitamine E est de capter les radicaux peroxydes lipidiques  $RO_2\cdot$  qui propagent les chaînes de peroxydation (**Gardès-Albert *et al.*, 2003**).

#### ✓ La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, l'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles  $\cdot OH$ , mais aussi avec les radicaux superoxydes  $O_2\cdot^-$ , en outre, l'ascorbate capte les radicaux peroxydes  $RO_2\cdot$ , en réagissant avec ces diversoxyradicaux, l'ascorbate est oxydé en radical ascorbyle ( $Asc\cdot^-$ ) qui est relativement inerte vis-à-vis des matériaux biologiques (**Gardès-Albert *et al.*, 2003**).

### **IV.3. Antioxydants d'origine végétale**

Les caroténoïdes et les polyphénols sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles  $\cdot\text{OH}$  et peroxydes  $\text{RO}_2\cdot$ . Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique.

Les flavonoïdes, classe importante des polyphénols, sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques telles que: les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses, ces activités sont attribuées, en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres, leur activité antioxydante en tant que piègeurs de radicaux libres et également en tant qu'inhibiteurs d'enzymes responsables de la formation de ces espèces nocives **(Favier, 2005)**.

# Matériel et méthodes

## I. Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits : hydro-méthanolique, acétate d'éthyle et aqueux de *Thymus ciliatus* en utilisant le test de réduction du fer FRAP.

## II. Matériel végétal

### II.1. Choix de la plante

La plante étudiée a été choisie principalement en fonction de son intérêt et de sa fréquence d'utilisation, grâce aux enquêtes ethno pharmacologiques menées au cours de cette étude auprès des guérisseurs traditionnels, des herboristes et des utilisateurs ou vendeurs de plantes médicinales.

### II.2. Provenance de *T. ciliatus*

La plante a été récoltée au mois d'Avril 2022, commune d'Ain Fezza, wilaya de Tlemcen et identifiée par Monsieur Baba Ali, maître de conférences classe « A » à l'université de Tlemcen.



**Figure 06 :** *Thymus ciliatus*.

Après la récolte, nos échantillons sont nettoyés et séchés pendant deux semaines sous des conditions bien précises ; à savoir :

- ✓ A l'abri de la lumière
- ✓ A l'abri de l'humidité.
- ✓ A une T° ambiante 18°C et dans un endroit bien aéré (**Laour et al., 2003**).

La partie aérienne (feuilles, fleurs, tiges) a été utilisée pour l'obtention de l'extrait étudié.

### III. Extraction

Dans un premier temps, un extrait brut eau-méthanol a été préparé, ce dernier subit une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle.

#### III.1. Préparation des extraits

10 g de matière végétale sèche sont mélangés avec 200 ml de solvant eau-méthanol préchauffé 30 :70 (v/v). Après une heure (extraction par infusion), le mélange est filtré sur papier filtre.



(A)



(B)



(C)

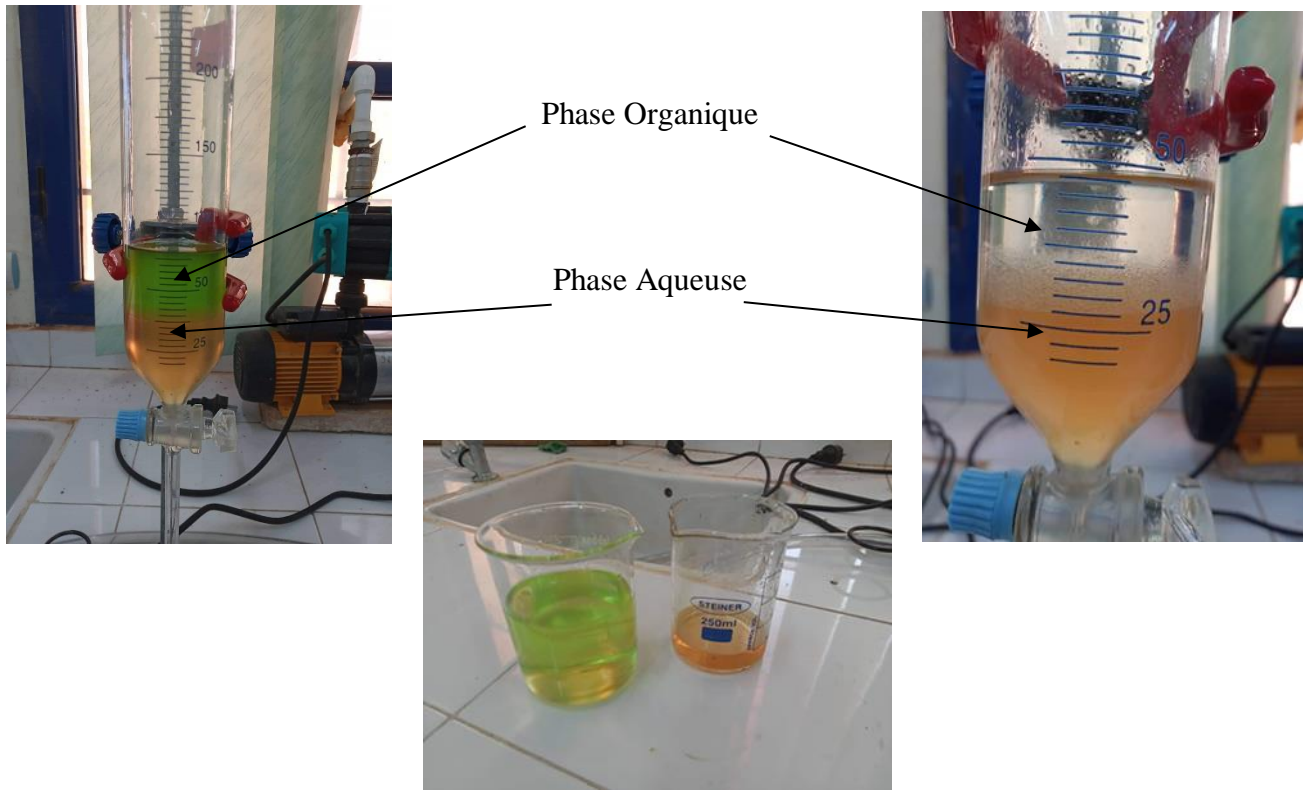
**Figures 07 :** Le mélange (A), infusion (B), Filtration (C)



**Figure 08 :** Evaporation par le Rotavapor (élimination de méthanol).

Après filtration une partie du filtrat est séchée à l'étuve à 50°C pendant 24h pour donner l'extrait brut, et l'autre subit une extraction liquide-liquide (V/V) par l'acétate d'éthyle pour

donner deux fractions organique et aqueuse. Fraction organique évaporé à l'aide de rota-vapor à 50°C et la fraction aqueuse séchée à l'étuve dans les mêmes conditions.



**Figure 09** : Extraction liquide-liquide et formation des deux phases.

### III.2. Rendement

Après l'extraction, les extraits séchés sont récupérés et les rendements sont calculés par la formule suivante :

$$R = [(M2 - M1) / P] \times 100$$

Où :

**R** : rendement en pourcentage %.

**M2** : la masse de la boîte Pétri après séchage (contient l'extrait) en gramme.

**M1** : la masse de la boîte Pétri vide en gramme.

**P** : 10g (poids de matériel végétal prise d'essai).

#### IV. Test de la réduction de chlorure ferrique (Test Ferric reducing-antioxidant power, FRAP)

##### IV.1. Solutions à préparer

- ✓ Solution tampon phosphate 0,2M ; pH = 6,6.
- ✓ Solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%.
- ✓ Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10% . ?
- ✓ Solution aqueuse de chlorure ferrique  $FeCl_3$  à 0,1%.

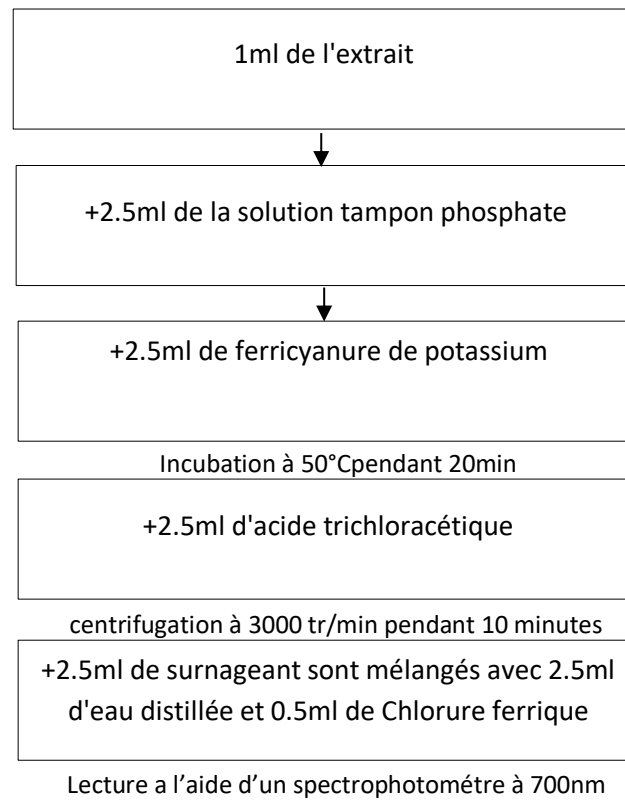
##### IV.2. Principe de la méthode

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **karagozler et al., (2008)**, le test de FRAP évalue directement la présence des antioxydants dans différents échantillons (**Khalil et al., 2012**).

Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ .

L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm, une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés, la puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydant. (**Karagozler et al., 2008**).





**Figure 10 :** Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur FRAP.

### IV.3. Mode opératoire

1ml de l'extrait à différentes concentrations (0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1mg/ml) est mélangé avec 2.5ml de la solution tampon phosphate et 2.5ml de ferricyanure de potassium, ensuite incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20min.

Après l'incubation 2.5ml d'acide trichloracétique sont ajoutés et on procède à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes (remarque : cette dernière étape peut ne pas être nécessaire).

2.5ml de surnageant sont mélangés avec 2.5ml d'eau distillée et 0.5ml de Chlorure ferrique.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

Tous les tests sont répétés trois fois. Afin d'exprimer les résultats en équivalent d'acide ascorbique, le pouvoir réducteur est évalué dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant différentes concentrations de ce standard (**Rezaire, 2012**), une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

# Résultats et interprétation

## I. Extraction

Les extraits obtenus étaient de couleur jaune claire (extrait brut), violet (extrait aqueux) et vert (extrait organique) comme l'indique les figures suivantes :



**Figure 11** : Les trois extraits après séchage.

### I.1. Rendement

Les rendements obtenus ainsi les caractéristiques de des extraits sont représentés dans le tableau 03.

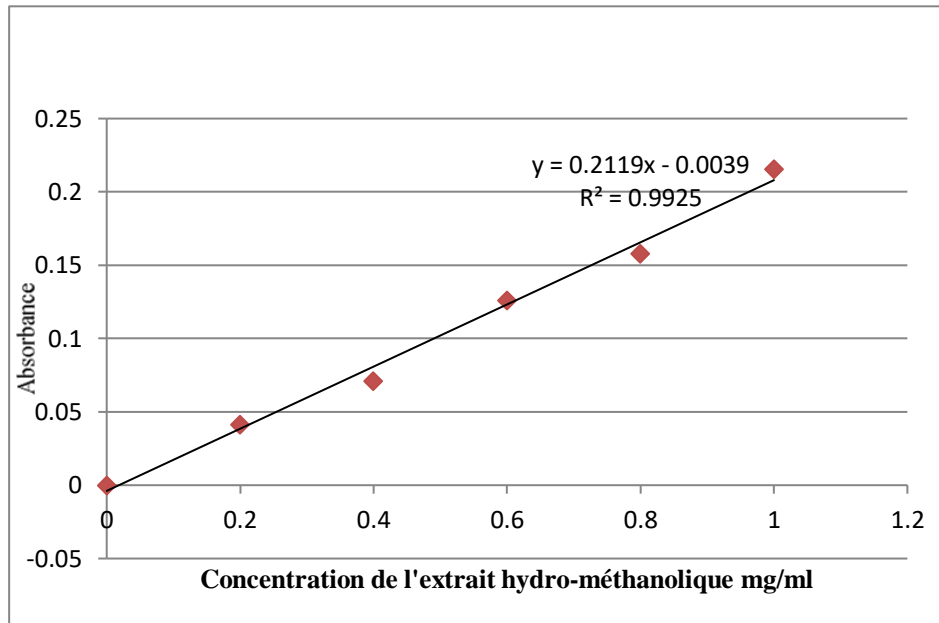
**Tableau 01** : Caractéristiques des extraits de la partie aérienne de *T. ciliatus*.

Extraits	Rdt (%)	solubilité
Eau-méthanol	43 %	Eau distillée
Fraction organique	4.5 %	Ethanol
Fraction aqueuse	2.42%	Eau distillée

## II. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP

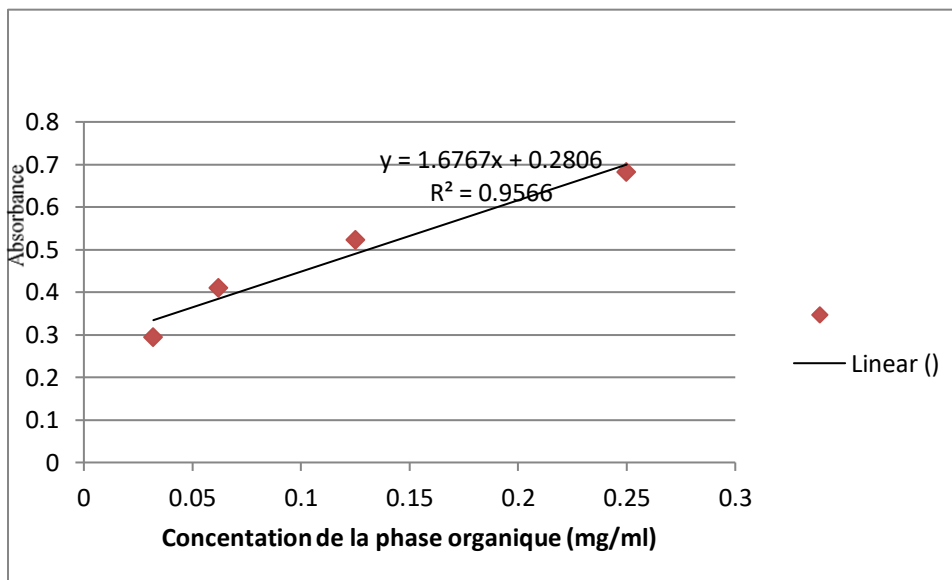
Les résultats obtenus sont explorés en traçant les graphes des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'extrait étudiées et la molécule de référence (l'acide ascorbique).

## II.1. Effets de l'extrait hydro-méthanolique brut



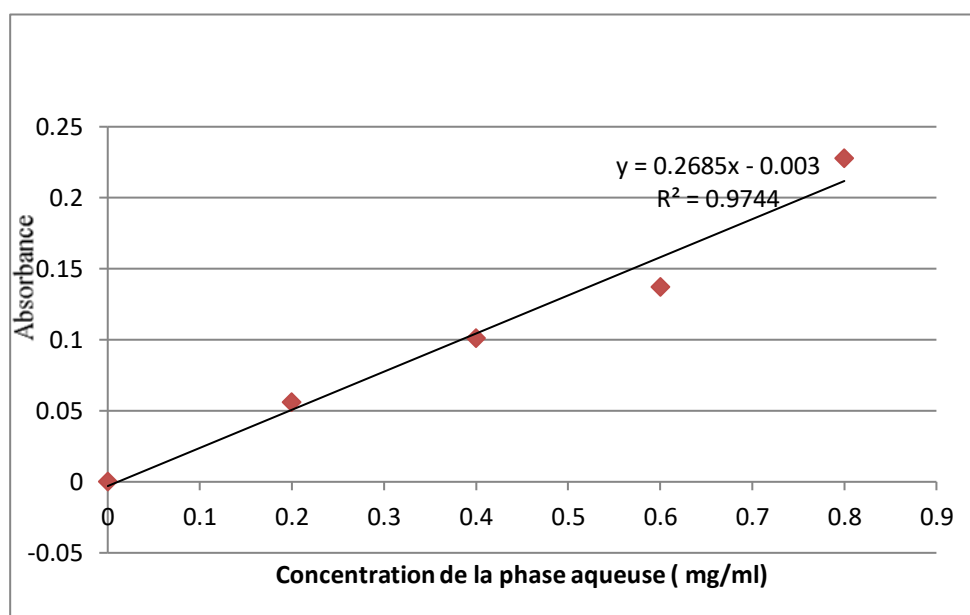
**Figure 12 :** Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'extrait hydro – méthanolique de *Thumys ciliatus*.

## II.2. Effet de l'extrait organique



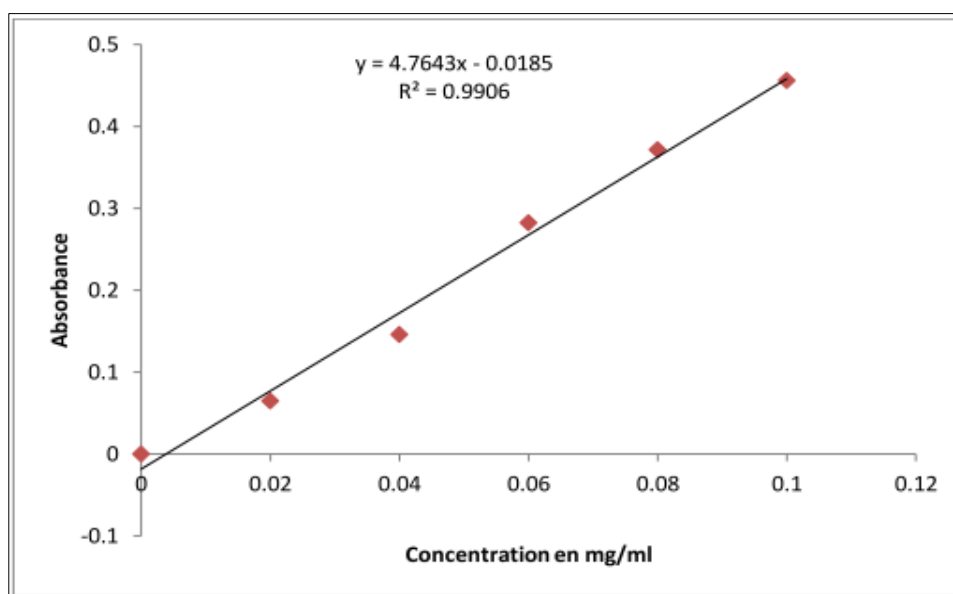
**Figure 13 :** Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'extrait organique de *Thumys ciliatus*.

### II.3. Effet de l'extrait aqueux



**Figure 14 :** Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Thumys ciliatus*.

### II.4. Effet de l'acide ascorbique



**Figure 15 :** Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide ascorbique de *Thymus ciliatus*.

D'après les graphes, on remarque que le pouvoir réducteur du fer des trois extraits et de la molécule de référence (acide ascorbique) augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration.

**Tableau 02** : valeur des EC<sub>50</sub> des extraits de *Thymus ciliatus*.

<b>Extraits</b>	Acide Ascorbique	Phase aqueuse	Phase organique	Eau-méthanol 'brut'
EC <sub>50</sub> (mg/ml)	0.108	0,465	1,97	2,382

L'étude de l'activité réductrice du fer montre que l'acide ascorbique (employé dans cette méthode comme un control positif) a la capacité réductrice la plus élevée (EC<sub>50</sub> =0,108 mg/ml), suivie par la phase aqueuse avec une EC<sub>50</sub> de 0,465 mg/ml, puis la phase organique avec une EC<sub>50</sub> de 1, 97mg/ml, l'extrait brut eau-méthanol présente la valeur d'EC<sub>50</sub> la plus élevée 2.382 mg/ml, cet extrait présente un faible pouvoir réducteur.

# Discussion



Depuis des siècles, les plantes médicinales constituent une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs utilisés pour le traitement de diverses maladies **(Mpiana et al., 2009; Saloufou et al., 2017)**.

L'objectif de ce travail est porté sur l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de *Thymus ciliatus* : eau-méthanol, acétate d'éthyle et aqueux par la méthode de FRAP.

Dans un premier temps, l'extraction des composés actifs de la partie aérienne de la plante a été effectuée par infusion, en utilisant l'eau-méthanol, nous avons ensuite déterminé le rendement des extraits.

L'extraction consiste à séparer les composés chimiques d'un organisme végétal à l'aide de solvants sélectifs. Le choix du solvant est basé sur sa polarité et sa capacité à extraire certaines molécules ; l'extraction d'une molécule se fera toujours par un solvant de même polarité. Le méthanol est un solvant polaire qui dissout les principes riches en groupements hydrophiles comme les terpénoïdes, les phénols, les lactones et les alcaloïdes **(Tahouo, 2016)**.

Le meilleur rendement est celui de l'extrait eau-méthanol 43%, suivi de la fraction organique avec un rendement de 4.5 %. Cependant la fraction aqueuse représente le rendement le plus faible 2,57%.

Notre rendement d'extrait méthanolique est beaucoup plus élevé que celui rapporté par **(Korib, 2017)** qui a enregistré un rendement de l'ordre de 4% pour les fleurs et de 2.92% pour les feuilles .

La méthode de FRAP a été réalisée pour mettre en évidence l'activité antioxydante des extraits (eau-méthanol, organique, et aqueux), Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur du fer augmente avec l'augmentation de la concentration des trois extraits de *Thymus ciliatus* et de l'acide ascorbique employé dans cette méthode comme un control positif. Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre le fer ferrique  $Fe^{3+}$  et les composés présents dans l'extrait. Le fer ferrique  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe de ferricyanure de potassium se réduit en fer ferreux  $Fe^{2+}$ , par ces composés **(Habibou et al., 2019)**.

Les valeurs  $EC_{50}$  obtenus permettant de classer la capacité à réduire le fer par les extraits testés, dont la fraction aqueuse montre un meilleur pouvoir réducteur avec une  $EC_{50}$  de 0,465 mg/ml par rapport à celui de la fraction organique avec une  $EC_{50}$  de 1,97mg/ml et de l'extrait brut avec une  $EC_{50}$  de 2,382mg/ml. L'activité de ces trois extraits reste plus faible que celle de l'acide ascorbique ( $EC_{50}= 0,108$ mg/ml), qui est considéré comme une molécule de

référence dans cette méthode, Le pouvoir réducteur étant inversement proportionnel aux valeurs de l'EC<sub>50</sub>.

Une étude réalisée par **Lagouri et Nisteropoulou (2009)** a montré une capacité réductrice de l'ordre de (EC<sub>50</sub>= 0.016 mg/ml) dans l'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne de *Thymus vulgaris*.

Selon, **Sayout et al., (2015)**, l'extrait méthanolique de *Thymus broussonetti Boiss* et *Thymus leptobotrys Murbdonnent* une activité antioxydante remarquable avec des (EC<sub>50</sub>=0.105 mg/ml) et (EC<sub>50</sub>=0.095 mg/ml) respectivement.

Les résultats de **Djelti & Belhadji (2016)** montrent que la capacité réductrice de l'extrait méthanolique de *Thymus capitatus* est de (EC<sub>50</sub>=0,721mg/ml).

A la fin, nous concluons que la partie aérienne de la plante *Thymus. ciliatus* présente une activité antioxydante intéressante et variables qui peut être due aux différentes molécules présentes dans les extraits testés.

# Conclusion

Les plantes médicinales représentent une source de molécules bioactives, qualifiées de métabolites secondaires, utilisés comme antioxydant et antimicrobienne.

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* par la méthode de réduction de fer FRAP.

Le mode d'extraction, ainsi que le stade végétatif de la plante influencent largement les différentes activités biologiques.

Les résultats de la méthode de réduction de fer FRAP, montrent que les trois extraits ont une capacité à réduire le fer qui augmente avec l'augmentation de la concentration, la fraction aqueuse présente une meilleure activité de réduire le fer avec une  $EC_{50}$  de 0,465 mg/ml, suivie par la phase organique avec une  $EC_{50}$  de 1,97mg/ml et l'extrait brut avec une  $EC_{50}$  de 2,382mg/ml, les activités restent toujours inférieures à celle de la molécule de référence (acide ascorbique).

A la lumière de ces résultats, plusieurs perspectives peuvent être proposés :

- Utilisation d'autre technique d'extraction avec des solvants à polarités différentes.
- Réalisation d'autres tests pour mieux évaluer le pouvoir antioxydant de cette plante.
- Séparation et identification des principes actifs présents dans les extraits préparés à partir de la plante par des nouvelles techniques tels que les techniques
- Etudier d'autres activités biologiques ; comme antimicrobienne
- Des études sur la toxicité de la plante.

# Références bibliographiques

## A

**Achat, S. (2014).** Polyphénols de l' alimentation : extraction , pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques.

**Ahlam, S., Fatima, B., Mohammed, O., Yousse, A., Lhou, M., & Abderrahmane, R. (2015).** Phytochemical screening and antioxidant activity of four Moroccan Thymus. 117–128.

**AKROUM, S. (2011).** Etude Analytique et Biologique des A ma Mère A la mémoire de mon Père A m a Sœur Et A mon Frère. 2010–2011.

**Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., Ajjouri, M. El, & Chaouch, A. (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 14(1), 141–148.

## B

**BENAHMED, F. (2010).** Stress oxydatif chez des plantules de *Vicia faba* L . soumises différentes contraintes abiotiques ( stress salin , stress hydrique et stress aux métaux lourds ).

**Bencheikh, S-E. (2017).** Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum labiatae*. Thème de doctorat en génie des procédés et environnement unic. K-M Ouargla.

**Ben Moussa MT. (n.d).** COMPOSES PHENOLIQUES PLAN : II-Biogenèse 1- La voie de l' acide shikimique 2- Voie de l' acétate II-Biogenèse .

**Ben Sassi A., Harzallah-Skhiri F., and Aouni1 M. (2007).** Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities.*J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428.

**Bentayeb, A., & Djemmal, S. (2014).** Contribution à la mise en évidence in vitro de l'efficacité des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* et *Thymus dreatensis* contre les champignons lignivores.

**Boizot, N., Charpentier, J., Boizot, N., & Méthode, J. C. (2020).** Méthode rapide d' évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d' un arbre forestier To cite this version: HAL Id: hal-02669118 Méthode rapide d' évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d' un arbre forestier.

**Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L.

**Boyd B., Ford C., Koepke M.C., GaryK., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience& Nutrition*. 4 (6):7.

**Briber, N. (2019).** Activité antioxydante et antibactérienne de la plante *Allium cepa*.

**BRUNETON, J. (2009).** Illustrations . Les illustrations de cet ouvrage ont été réalisées par Annie B RUNETON , d ' après les auteurs suivants : Les informations contenues dans cet ouvrage ont un but pédagogique ; ce dernier ne constitue en aucun cas un guide de traitement.

### C

**City, M., Khadija, B., & Mohammed, S. (2020).** ETHNOBOTANICAL SURVEY OF MEDICINAL PLANTS USED FOR DISINFECTION OF. 11(9).

**Cotelle S., Masfaraud J.F., Férard J.F. (1999).** Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia*-micronucleus and the *Tradescantia*-micronucleus assays. *Mutation Research*, 426, 167-171.

### D

**Danièle Festy. (2017).** Ma bible des huiles essentielles, , éditions Leduc.s.

**Daouda Toure., (2015).** ETUDES CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE QUATRE PLANTES AROMATIQUES MEDICINALES DE CÔTE D'IVOIRE. Chimie organique. Université Felix Houphoeut Boigny, Côte d'Ivoire.

**Dauqan, E. M. A., & Abdullah, A. (2017).** Medicinal and Functional Values of Thyme (*Thymus vulgaris* L .) *Herb*. 5(02), 17–22.

**Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. 33(0).

**Djelti, S., & Belhadji, H. (2016).** Etude de l'activité antioxydante et le pouvoir antibiofilm des extraits de plante *Artemisia herba alba* et *Thymus capitatus*.

### E

**Eddine, A. S. (2018).** Phytothérapie et plantes médicinales.

**Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherston R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterases activity. *Biochem.Pharmacol.* 7: 88-95.

## F

**Favier A. (2003).** Le stress oxydant. *Actualité chimique* , 108-115.

## G

**Gardès-Albert M, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique.* pp: 91-96.

**Ghedira, K. (2005).** rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. 162–169.

**Ghelichnia, H. (2016).** ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF THREE SPECIES OF THYMUS GROWING WILD ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF THREE SPECIES OF THYMUS GROWING WILD IN MAZANDARAN.

**Gruffat X3. (2017).** Définition de la phytothérapie.

**Guillouty Amandine. (2016).** Plantes médicinales et antioxydants, Thèse, Université Toulouse III Paul Sabatier, p 16-18.

## H

**Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P., & Benjamin, O. (2019).** Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European Scientific Journal*, 15(12), 159-171.

**Hardman, R., Stahl-biskup, E., & Sáez, F. (n.d.).** Thyme The genus *Thymus*.

**<http://www.florabeilles.org>**

## J

**Jacques B, and André R. (2004).** *Biochimie métabolique* Ed ellipses .Paris. pp: 217-219- 220-223-225.



**JÉRÔME, B. (2006).** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*.

## K

**Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008).** Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechastata*. *Food Chemistry*, 111(2), 400-407.

**Khalil M.I., Moniruz zaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam MA., Islam MN., Sulaiman SA., Gan SH. (2012).** Physico-chemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules* 17:11199–11215.

**Khelifi, Z., & Medjani, F. (2018).** Evaluation des activités biologiques des extraits d'une plante Algérienne appartenant au genre *Thymus*. Pour l'obtention Du Diplôme de Master En Biochimie Appliqué. Université Des Frères Mentouri Constantine Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie., 94.

**Kholkhal, F. (2014).** Étude Phytochimique Et L'Évaluation De L'Activité Antioxydante De L'Extrait De Tanin De *Thymus Ciliatus* Ssp.

**Korib, G. (2017).** Activités antioxydantes des extraits méthanoliques de *Thymus ciliatus* ssp-*eu-ciliatus* (Thym).

## L

**Lagouri, V., & Nisteropoulou, E. (2009).** Antioxidant properties of *O. onites*, *T. vulgaris* and *O. basilicum* species grown in Greece and their total phenol and rosmarinic acid content. *Journal of foodLipids*, 16(4), 484-498.

**Le, P. P., Bensalek, F. E., Du, O., & En, D. (2018).** Traitement des troubles fonctionnels intestinaux dans le contexte marocain.

## M

**Marfak A. (2003).** Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. pp: 6-7-10-

**Marwa, A., & Sarra, L. (2019).** Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae.

**Melle Anne-Sophie Limonier. (2018).** La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie. 92.

**Moussaoui, F., Alaoui, T., & Aoudry, S. (2014).** Census Ethnobotanical Study of Some Plants Used in Traditional Medicine in the City of Meknes. July, 2480–2496.

**Mpiana PT, Balanganayi EK, Kanangila AB, Kalonda EM, Ngbolua KN, Tshibangu DST, Atibu EK, Lumbu JBS. (2009).** Activité antirépanocyttaire et thermodégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 3(3): 551-560.

#### N

**Nemati Z., Barzegar R., Khosravinezhad M., Talebi E., Safaei H.R. (2017).** Chemical composition and antioxidant activity of Shirazi *Thymus vulgaris* essential oil. *Advanced Herbal Medicine*. 3 (2): 26-32.

**Noisette, H. V. .lettre d' information de N. A.r.d. : Natural Aromathérapie reaserch And développement N°35 : Salvia sclarea.**

#### P

**Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., Huang, F.,** Antioxydant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel, *Food Chemistry*, 2008, Vol.106; pp 1264-1270.

**Prigent SVE, Gruppen H, Visser A, van Koningsveld GA, de Jong GAH, Voragen AGJ. (2003).** Effects of non-covalent interactions with 5-O-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid) on the heat denaturation and solubility of globular proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

**Pierre M., Lis .M (2007).** Secrets des plantes. Editions Artemis, Paris 1: 463.

#### R

**Ross J.A., Kasum C.M. (2002).** Dietary flavonoids : Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annu. Rev. Nutr.* 22: 19–34.

#### S

**Sahoua, N. F. E. G. (2021).** Screening biologique et phytochimique du genre *Thymus*.

**Saidj, F. (2006).** Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus kabylica*.

**Saloufou KI, Boyode PB, Simalou O, Eloh K, Melila M, Kpegba K, Novidzro KM, Gaslonde T, Michel S. (2017).** Identification de deux phytostérols biologiquement actifs de l'extrait cyclohexanique des feuilles de *Ficus sur* (Moraceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 11(5): 2510-2520.

**Sofowera A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Economie et Développement.

**Spichiger R.E., Savolainen V.V., Figeat M., Jeanmonod D. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Presses polytechniques et universitaires romandes (ed.). Lausanne. P. 328.

**Stadtman ER 2000 et Levine RL. (2000).** "Protein Oxidation." *Annals of NY Academy of Science* 899(1):191-208.

**Stahl-Biskup E. (2002).** *Thyme : the genus thymus* Ed Taylor and Francis, London.

## T

**Tahouo, F. (2016).** procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base de plantes (Doctoral dissertation).

## W

**Waksmundzka, M., & Sherma, J. (n.d.).** Photodiode Array (PDA) and Other Detection Methods in HPLC of Plant Metabolites.

