



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biochimie appliqué

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé

**Evaluation des activités biologiques des extraits d'une plante
Algérienne appartenant au genre *Thymus*.**

Présenté par : KHELIFI Zahia

MEDJANI Fouzia

Le : 02/07/2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : KHALI L. (MAA-UFM Constantine 1).

Rapporteur : SEMRA I. (MAA-UFM Constantine 1).

Examinatrice : Dr. MAAMERI Z. (MCA-UFM Constantine 1).

Année universitaire
2017 - 2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciement

*Avant tout propos, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donnée la capacité et la volonté jusqu'au bout pour réaliser ce travail.*

*Nous remercions notre encadreur **Mme SEMRA Ilhem** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

*Nous remercions, **Mme KHALI Linda** Maître de conférences classe A, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*nous remercions également, **Dr.MAAMERI Zineb**, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidé dans la réalisation de ce mémoire et spécialement au personnel du laboratoire de microbiologie en particulier **FERGANI Mounia**, et **Dr.BENCOUICI Chawki** du Centre de Recherche et Biotechnologie (CRBT).*

Nous tenons à remercier nos familles pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Un grand merci particulier à nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, nous les remercions pour leur confiance, leur disponibilité et leur fidélité.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail de recherche, qu'ils trouvent ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Fouzia, Zahia

Dédicace

*Mes remerciements vont tout d'abord au bon **DIEU** pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade.*

Je dédie ce modeste travail :

*Aux personnes les plus chères au monde : **Mon père Mohamed Cherif** et **Ma mère Souad**, qui sont La lumière de mes yeux, Pour votre amour, votre affection Votre soutien constant, Et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Recevez ici ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices.*

*À mes chers sœurs: **Ines** et **Nada***

*À Mes amies: **Khedidja**, **Lynda** et **Zakia**.*

Pour votre fidèle amitié et les bons moments passés ensemble tout au long de mes études et en dehors.

*À Mon encadreur **Semra Ilham**.*

Pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour leur modestie, leur générosité et leur encouragement

*À Mon binôme **Fouzia**.*

J'ai partagé avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.

À toutes ma famille et mes amies

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

Zahia

Dédicace

*Mes remerciements vont tout d'abord au bon **DIEU** pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade.*

Je dédie ce modeste travail :

*Aux personnes les plus chères au monde : **Mon père Tahar** et **Ma mère Khedidja**, qui sont La lumière de mes yeux, Pour votre amour, votre affection Votre soutien constant, Et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Recevez ici ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices.*

*À mes chers frères et sœurs: **Zakaria, Charif, Aissa, Madiha, Meriem.***

*À **mon fiancé** qui m'a beaucoup encouragée tout au long de ce travail.
Merci d'avoir montré beaucoup de patience avec moi durant les moments les plus stressants,
merci pour ta fidélité et ta gentillesse.*

*À Mes amies: **Khedidja, Cheima, Salima et Zakia.***

Pour votre fidèle amitié et les bons moments passés ensemble tout au long de mes études et en dehors.

*À Mon encadreur **Semra Ilham.***

Pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour leur modestie, leur générosité et leur encouragement

*À Mon binôme **Zahia.***

J'ai partagé avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail.

À toutes ma famille et mes amies

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

Fouzia

Sommaire

Sommaire

Introduction	1
Revue bibliographique	
1. Etude de la plante	3
1.1. Famille des lamiaceae.....	3
1.1.1. Présentation de la famille.....	3
1.1.2. Position systématique et caractères botanique de la famille.....	3
1.1.3. Caractères botaniques.....	4
1.1.4. Intérêt nutritionnel, économique et pharmacologique.....	5
1.2. Genre <i>Thymus</i>	7
1.2.1. Présentation du genre.....	7
1.2.2. Classification taxonomique.....	7
1.2.3. Description morphologique.....	8
1.2.4. Localisation et répartition géographique.....	8
1.2.4.1. Dans le monde.....	8
1.2.4.2. En Algérie.....	9
1.2.5. Exigence écologique.....	10
1.2.6. Utilisation et activités biologiques.....	11
2. Métabolites secondaires.....	12
2.1. Composés phénoliques.....	12
2.1.1. Structure.....	13
2.1.2. Classification.....	13
2.1.3. Biosynthèse.....	14
2.1.3.1. Voie shikimate (l'acide shikimique).....	14
2.1.3.2. Voie de l'acide malonique "malonylpathway".....	15
2.2. Acides phénoliques.....	15
2.2.1. Activités biologiques des acides phénoliques.....	16
2.3. Flavonoïdes.....	17
2.3.1. Structure.....	17
2.3.2. Classification.....	17
2.3.3. Distribution et localisation.....	18
2.3.4. Biosynthèse.....	19
2.3.5 Activités biologiques des flavonoïdes.....	21
2.4. Huiles essentielles.....	22
2.5. Métabolites secondaires isolés de genre <i>Thymus</i>	23
2.5.1. Acides phénoliques.....	23
2.5.2. Flavonoïdes.....	25
3. Activités biologiques.....	26
3.1. Activité antioxydante.....	26
3.1.1. Sources d'antioxydants.....	27
3.1.2. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydants.....	29
3.1.2.1. Méthode du DPPH'.....	29
3.1.2.2. Piégeage de l'ABTS+•.....	30
3.1.2.3. Méthode du CUPRAC.....	31
3.2. Activité anticholinestérase.....	31
3.3. Activité antimicrobienne.....	32
Matériel et méthodes	
1. Matériel végétal.....	33
2. Caractérisation quantitative des extraits.....	33
2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	33
2.2. Dosage des flavonoïdes.....	34
3. Activités biologiques <i>in vitro</i> des extraits.....	35

Sommaire

3.1. Evaluation de l'activité antioxydante	35
3.1.1. Activité antiradicalaire du DPPH	35
3.1.2. Activité du piégeage du radicale l'ABTS	36
3.1.3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)	37
3.2. Activité anti-cholinestérase	37
3.3. Activité antimicrobienne	38
Résultats et discussion	
1. Dosage des polyphénols totaux	40
2. Dosage des flavonoïdes totaux	41
3. Activité antioxydante	43
3.1. Activité antiradicalaire du DPPH	43
3.2. Activité du Piégeage de l'ABTS	47
3.3. Activité antioxydants (CUPRAC)	49
4. Activité anticholinestérase	52
5. Activité antimicrobienne	53
Conclusion	58
Références bibliographiques	59
Résumés	72

Liste des figures

Figure 1 : Caractères botaniques des lamiaceae	05
Figure 2 : Distribution géographique du <i>Thym</i> dans le monde	09
Figure 3 : Voie de shikimate	14
Figure 4 : Synthèse des polycéto-acides	15
Figure 5 : Squelette de base des flavonoïdes	17
Figure 6 : Structure de base des différentes classes des flavonoïdes	18
Figure 7 : Biosynthèse des dérivés cinnamiques	19
Figure 8 : Formation de chalcone à partir des acides cinnamiques	20
Figure 9 : Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes	21
Figure 10 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant	29
Figure 11 : Formation et piégeage du radical ABTS ⁺ par un antioxydant donneur de H	30
Figure 12 : Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc	31
Figure 13 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman's	32
Figure 14 : Préparation du DPPH	36
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols	40
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	42
Figure 17 : Teneur en polyphénols et flavonoïdes pour l'extrait éthanolique et chloroformique	43
Figure 18 : Microplaque de dosage de polyphénols et flavonoïdes totaux	43
Figure 19 : Microplaque de dosage du DPPH	44
Figure 20 : Test DPPH pour l'extrait éthanolique	44
Figure 21 : Test DPPH pour l'extrait chloroformique	44
Figure 22 : Valeurs des IC ₅₀ du test DPPH	45
Figure 23 : Microplaque de dosage de l'ABTS	47
Figure 24 : Test ABTS pour l'extrait éthanolique	47
Figure 25 : Test ABTS pour l'extrait chloroformique	48
Figure 26 : Comparaison des IC ₅₀ du test ABTS	48
Figure 27 : Microplaque de dosage de CUPRAC	49
Figure 28 : Test CUPRAC pour l'extrait éthanolique	50
Figure 29 : Test CUPRAC pour l'extrait chloroformique	50
Figure 30 : Microplaque de dosage de l'activité anticholinestérase	52
Figure 31 : Diamètre des zones d'inhibition de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> pour différentes dilutions	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : Description morphologique de la famille des lamiaceae	04
Tableau 2 : Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des lamiaceae	06
Tableau 3 : Classification botanique du <i>Thymus</i>	07
Tableau 4: Localisation des principales espèces de genre <i>Thymus</i> en Algérie	09
Tableau 5: Principales classes des composés phénoliques	13
Tableau 6: Principaux acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque	15
Tableau 7 : Principaux acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique	16
Tableau 8 : Acides phénoliques de genre <i>Thymus</i>	23
Tableau 9 : Quelques flavonoïdes isolés d'espèces de genre <i>Thymus</i>	25
Tableau 10 : Antioxydantes enzymatiques	28
Tableau 11 : Série de dilution et concentration respective d'extrait	35
Tableau 12 : Teneur en polyphénols totaux dans les extraits éthanolique et chloroformique d'une plante appartenant au genre <i>Thymus</i>	40
Tableau 13 : Teneur en flavonoïdes dans l'extrait chloroformique et éthanolique de genre <i>Thymus</i>	42
Tableau 14 : Valeurs des concentrations d'inhibitions IC_{50} des 2 extraits testés	45
Tableau 15 : Valeurs des concentrations d'inhibitions IC_{50} des 2 extraits testés	48
Tableau 16: Valeurs de l'absorbance de l'extrait éthanolique, chloroformique, BHT et BHA	51
Tableau 17 : Pourcentage d'inhibition de l'AChE	52
Tableau 18 : Diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'extrait éthanolique et chloroformique du genre <i>Thymus</i>	53
Tableau 19 : Diamètre des zones d'inhibition <i>Staphylococcus aureus</i> pour différentes dilutions	54

Liste des abréviations

AChE : Acétylcholinestérase
ACNH₄ : Acétate d'ammonium
AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium
(Al(NO₃)₂) : Nitrate d'aluminium
ATCC: American Type Culture Collection
ATCI : Iodure d'acétylthiocholine
BHA: Hydroxyanisolebutylé
BHT: Hydroxytoluènebutylé
CH₃COOK: Potassium acétate
Cu Cl₂: Chlorure de cuivre
CUPRAC: Cupricion reducing antioxidant capacity
DMSO: Diméthylsulfoxyde
DPPH: 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl
DTNB: Acide 5,5''-dithiobis-2-nitrobenzoïque
EAG: Equivalent d'acide gallique
EOA: Espèce oxygénée active
EQ: Equivalent de quercétine
ERO: Espèces réactives d'oxygène
FCR: Folin-Ciocalteu
GN: Gélose Nutritif
GP: Gallate de propyle
H₂O: Eau
H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène
H₃PW₁₂O₄₀: Acide phosphotungstique
H₃PMo₁₂O₄₀: Acide phosphomolybdique
IC₅₀: Concentration Inhibitrice à 50%
L: Litre
MeOH: Méthanol
mg: Milligramme
Mo₈O₂₃ : Molybdène
M.H: Milieu Muller-Hinton
mg /ml: Milligramme/ Millilitre

Liste des abréviations

min: Minute

ml: Millilitre

NaOH: Hydroxyde de sodium

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

NC: Néocuproéne

nm: Nanomètre

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity

THBQ: Tert-butylhydroquinone

µg : Microgramme.

W₈O₂₃: Oxydes de tungstène

%: Pourcentage

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En effet, l'usage des remèdes à base de plantes utilisés par les pharmacopées traditionnelles pour le traitement des maladies de l'homme est très ancien, la grande majorité des populations rurales se soigne exclusivement avec des plantes médicinales (Newman et *al.* 2007).

Ainsi, malgré le développement du médicament de synthèse, le médicament végétal sous ses différentes formes continue à occuper une place de choix. Entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (Adossides 2003).

En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 90% de la médecine traditionnelle dans ce continent (OMS 2002).

L'Algérie, de par sa gamme de climats très variée et sa situation géographique, possède un ensemble considérable d'espèces naturelles qui représentent un patrimoine phylogénétique de très grande importance vu leur mode de répartition spatiale et leur rôle dans l'équilibre écologique (Snoussi et *al.* 2003).

Les plantes médicinales Algériennes méritent une attention particulière. Il existerait en effet 3139 espèces décrites par Quézel et Santa 1962.

Parmi cette végétation, on trouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatisation des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé aux genres *Thymus* de la famille des lamiacées.

Notre choix pour ce genre est justifié par le fait que celle-ci est riche en huiles essentielles et composés phénoliques notamment les flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses.

Notre travail s'articule autour de deux parties :

La première partie consiste en une revue bibliographique qui a pour objet de donner des informations sur la plante étudiée, les métabolites secondaires ainsi que sur les activités biologiques.

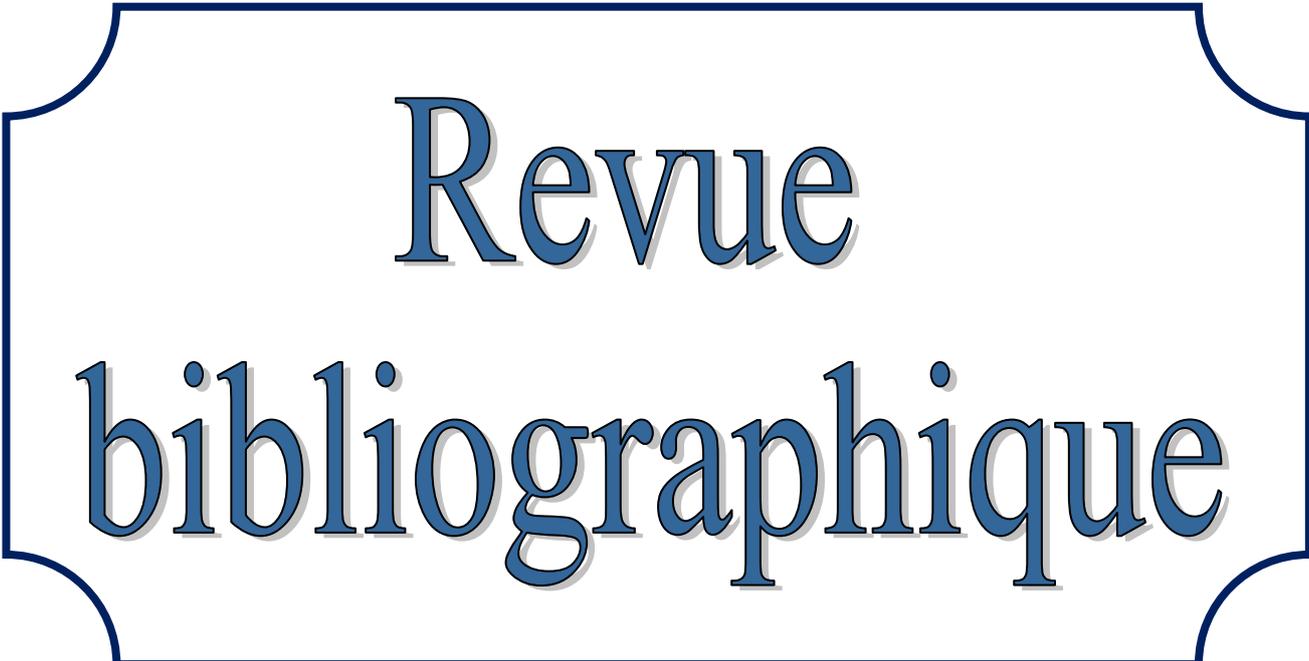
Dans la deuxième partie, nous avons focalisé sur le matériel et les méthodes utilisées dans notre travail. Notamment, les méthodes utilisées pour le dosage colorimétrique (des

Introduction

polyphénols et des flavonoïdes), les activités anti-oxydants (DPPH, ABTS, CUPRAC) ainsi que l'activité antimicrobienne et l'activité anticholinestérase des deux extraits éthanolique et chloroformique de notre plante (*Thymus*).

Nous discuterons, les résultats obtenus lors de cette étude.

Pour terminer, une conclusion sur l'ensemble de cette étude ainsi que les perspectives ont été dégagées.



Revue
bibliographique

1. Etude de la plante

1.1. Famille des lamiaceae

1.1.1. Présentation de la famille

La famille des lamiaceae (labiées) du latin labia (lèvre) signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Naghibi et *al.* 2005 ; Couplan 2000), est une famille importante appartenant aux angiospermes dicotylédones, qui comprend près de 7000 espèce répartie en 250 genres plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (Botineau 2010 ; Martin 2014).

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 (Quezel et Santa 1962).

La famille des lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naghibi et *al.* 2005). Elle est divisée en sept sous-familles : *Ajugoideae*, *Lamioideae*, *Nepetoideae*, *Prostantheroidea*, *Scutellarioideae*, *Symphorematoideae* et *Viticoideae* (Harley et *al.* 2004).

Un très grand nombre de genres de la famille lamiaceae sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique mais aussi, en composés phénoliques, tannins, flavonoïdes, iridoïdes glycolysés, quinones, coumarines, terpénoïdes, saponines et dans certains cas, des pyridines et des alcaloïdes pyrrolidiniques (Kuklinski 2000; Naghibi et *al.* 2005).

1.1.2. Position systématique et caractères botaniques de la famille

D'après la nouvelle classification de l'APG 3 (Angiosperms Phylogeny Group 3, 2009) (Dupont et Guignard 2012), la famille des lamiaceae est classée comme suit:

Embranchement: Embryophytes

Sous Embranchement: Trachéophytes

Super Classe: Spermaphytes

Classe: Angiospermes

Grade: Triporées évoluées

Grade: Astéridées

Grade: Lamiidées (Euastéridées I)

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

1.1.3. Caractères botaniques

Cette famille est l'une des premières à être distinguées par les botanistes (Pistrick 2002), et ceci par la particularité de ses caractères, représentés dans le Tableau 1 et Figure 1.

Tableau 1 : Description morphologique de la famille des lamiaceae.

Morphologie générale	Plantes herbacées, annuelles ou vivaces ou sous-arbrisseaux, très rarement des arbres. Suffrutescentes ou ligneuses, souvent velues (Martin 2014 ; Rameau et al. 2008).
Tiges	Tiges généralement quadrangulaires (Dupont et Guignard 2004).
Feuilles	Opposées-décussées, parfois verticillées, simple parfois composées, Pas de stipules. Adaptation des feuilles aux climats secs caractérisés par un limbe coriace, réduit et des poils sécréteurs (Spichiger et al. 2004).
Inflorescence	Situées à l'aisselle des feuilles supérieures, sont du type cyme : d'abord bipares, puis unipares par manque de place. Elles sont fréquemment condensées en glomérules et, souvent simulent autour de la tige un verticille de fleurs (et, si les entre-nœuds sont très courts et les feuilles réduites à des bractées : Menthes) (Dupont et Guignard 2004).
Fleurs	Typiquement zygomorphe a deux lèvres plus rarement 1 lèvre (<i>Ajuga</i> , <i>Teucrium</i>). parfois à symétrie radiaire (<i>Mentha</i> , <i>Lycopus</i>), hermaphrodite mais dont les organes femelles peuvent être atrophiés (<i>Mentha</i> , <i>Nepeta</i>), calice pentamère à pièce souvent soudées(parfois bilabié), généralement terminées par des dents ou des aiguillons corolle à 5pétales soudés ,androcée à 4étamines (Chez <i>Salvia</i> ou <i>Lycoopus</i> , voire absentes cher certains individus de <i>Glechoma</i>), gynécée à 2 carpelles soudé mais formant 4 loges distinctes contenant chacune un ovule basal et un ovaire supère (Martin 2014).
Fruits	Typiquement Tétrakènes (formé par quatre nucules), parfois drupe, graine avec un embryon droit, peu ou pas d'albumen (Martin 2014 ; Spichiger et al. 2004).

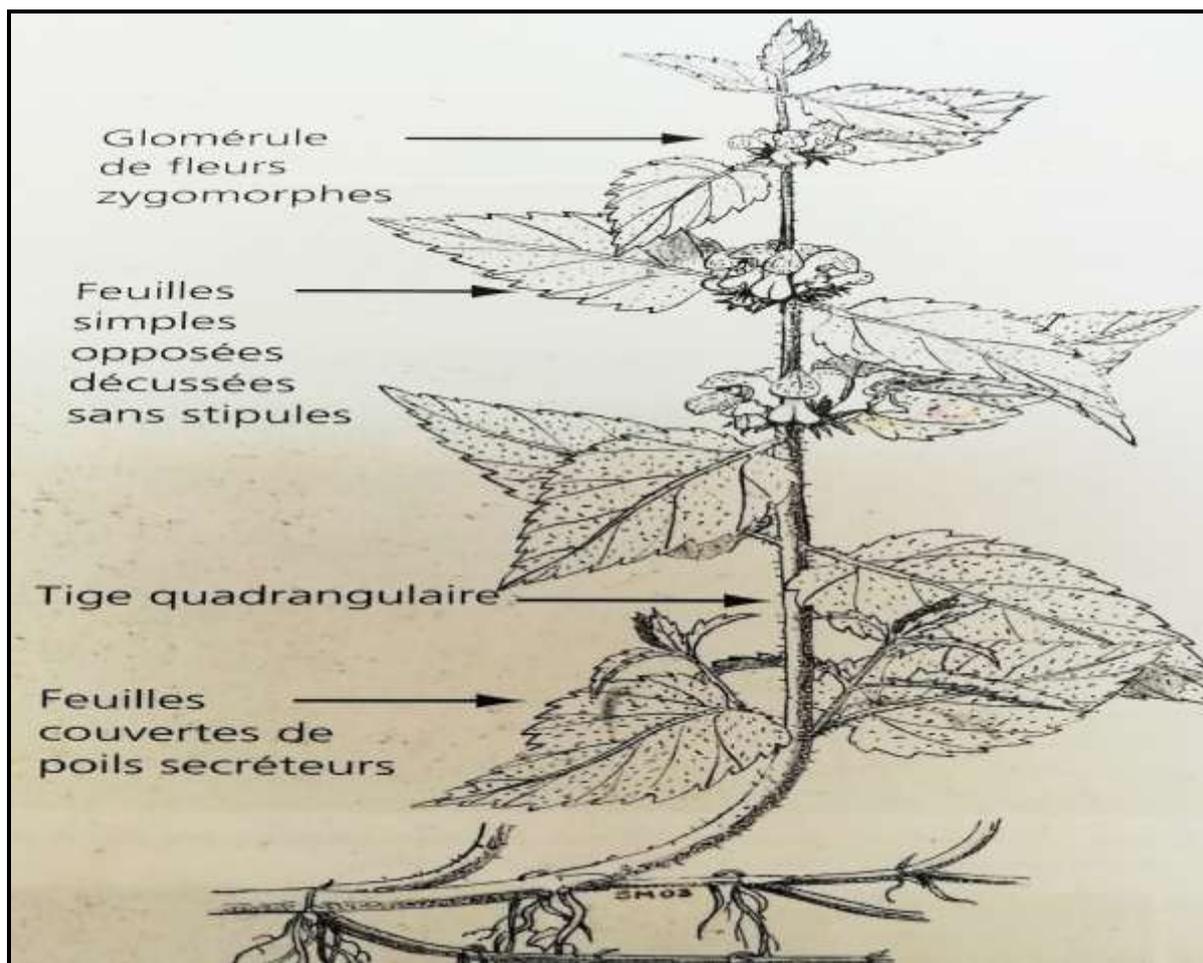


Figure 1 : Caractères botaniques des lamiaceae (Meyer et al. 2008).

1.1.4. Intérêt nutritionnel, économique et pharmacologique

Cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales du monde entier. Les espèces des genres *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum*, *Coleus* et *Ocimum* sont utilisées comme des légumes, des arômes alimentaires et dans l'industrie du bois (Tecton). En culture ornementale d'intérieur, on retrouve quelques espèces du genre *Savory* (*Satureja hortensis*), crosne de *Tubifera*, *Salvia* et *Coleus* (Meyer et al. 2004 ; Messaili 1995). Notons également que plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme *Lavandula*, *Teucrium*, *Thymus* et *Salvia* (Naghbi et al. 2005).

Des nombreuses espèces de cette famille ont confirmé leur intérêt pharmacologique dans la littérature et qui peuvent être à titre indicatif dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Quelques espèces d'intérêt pharmacologique de la famille des lamiaceae (Naghbi et *al.* 2005 ; Spichiger et *al.* 2004).

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Activité pharmacologique
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	Insecticide, antioxydante, diurétique.
<i>Salvia officinalis</i>	Sauge	Antisudoral, hypoglycémiant, cicatrisant, tonique.
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym	Anti-inflammatoire, vermifuge, stimulant, diurétique, antispasmodique, antiseptique.
<i>Nepeta cataria l.</i>	Alaf-egorbehdashti	Activités antimicrobiennes.
<i>Lavandula officinalis</i> , <i>L. angustifolia</i>	Lavande	Antiseptique, diurétique antispasmodique, insecticide.
<i>Gelechoma hederacea</i>	Lierre terrestre	Anti inflammatoire, bronchique.
<i>Mentha piperita</i>	Menthe poivrée	Carminatif, stimulant, digestif, antiseptique.
<i>Marrubium vulgare</i>	Marrube blanc	Fébrifuge, antipaludique, tonique, diurétique, expectorant, cholérétique.
<i>Melissa officinalis</i>	Mélicse	Antispasmodique, Cicatrisant, Digestif, cholérétique.
<i>Ocimum basilicum</i>	Basilic	Digestif, diurétique, antispasmodique, antiseptique.
<i>Satureja hortensis</i>	Sarriette	Digestif, antispasmodique.

Le genre *Thymus* choisit dans notre travail est Parmi les plantes aromatiques appartenant à la famille des labiées très présente en Algérie.

1.2. Genre *Thymus*

1.2.1. Présentation du genre

Le nom *Thymus* vient probablement du latin "*Thymus*" qui signifie « parfumé » ou du Grec "*Thymos*" qui signifie "courage" ou "force" (Stahl-Biskup et Saez 2002). 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 (Alaoui-Jamali et al. 2016 ; Zeghib 2013).

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).

Le genre *Thymus* appartient à la tribu Mentheae et à la sous-famille Nepetoideae (Morales 2002). C'est l'un des huit genres les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces incluses dans la famille lamiaceae, regroupant environ 350 espèces, sous-espèces et variétés de plantes sauvages (Alaoui-Jamali et al. 2016 ; Morales 1997 ; Sidali et al. 2014). Du point de vue taxonomique, *Thymus* est l'un des genres les plus complexes en raison de la présence de divers chémotypes concernant les profils d'huiles essentielles associés à plusieurs de ses espèces (Senatore 1996 ; Napoli et al. 2010).

1.2.2. Classification taxonomique

La classification botanique de *Thym* est présentée dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Classification botanique du *Thymus* (Kholkhal 2014).

Règne	Plantae (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>

1.2.3. Description morphologique

Le *Thym* présente les caractéristiques suivantes :

- Plante aromatique, peu élevée, très ramifiée, à tige ligneuse, sous ligneuse ou herbacée.
- Feuilles opposées, persistantes ou semi persistantes petites, entières, de forme variable.
- Fleurs pourpres rosées ou blanches, petites, disposées en têtes globuleuses ou en épis au sommet des rameaux.
- Calice tubuleux en forme de cloche, bilabié la lèvre supérieure à 3 dents l'inférieure à 2 lobes en alène ciliée ; corolle bilabiée, la lèvre supérieure dressée, l'inférieure, étalée à 3 lobes (le médian plus grand), 4 étamines saillantes.
- Carpelles lisse, ovoïdes (Spichiger et *al.* 2004).

1.2.4. Localisation et répartition géographique

1.2.4.1. Dans le monde

Le *Thym* est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (Mabberley 1997) (Figure 2). Il est très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries, Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie, en Europe nordique jusqu'aux bords du Groenland (Morales 1997).

Selon une étude menée par Nickavar et *al.* 2005, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre, en particulier la région de la méditerranée occidentale (Hamideh et *al.* 2009).

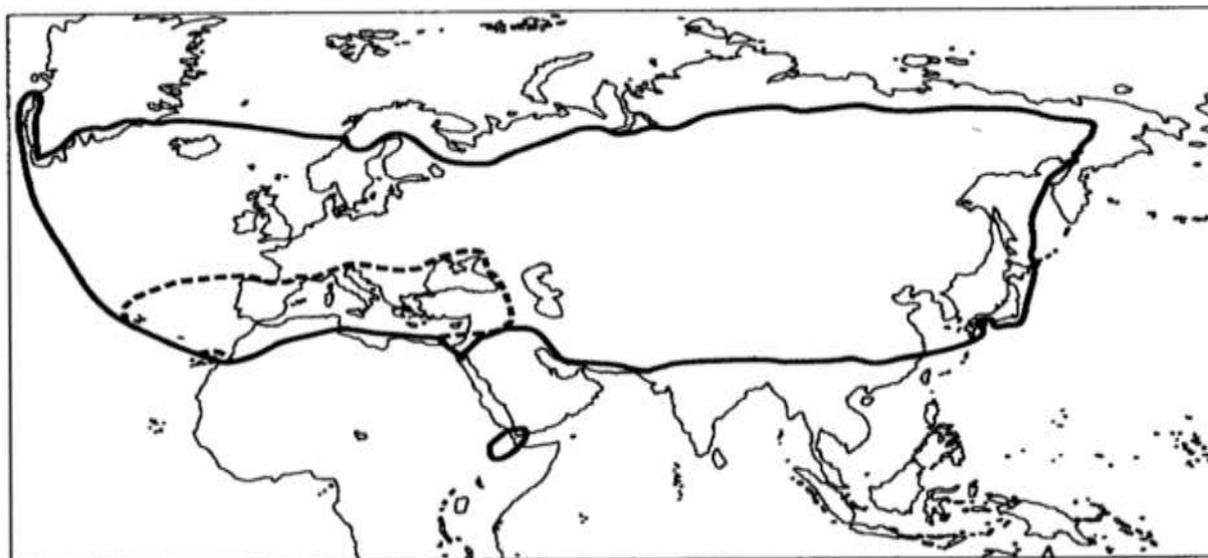


Figure 2 : Distribution géographique du *Thym* dans le monde (Morales 1997).

Le cercle noir représente la zone de distribution du genre *Thymus* dans le monde.

1.2.4.2. En Algérie

Le genre *Thymus* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Ghomari et *al.* 2014). Sa répartition géographique est représentée dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Localisation des principales espèces de genre *Thymus* en Algérie (Mebarki 2010).

Espèce	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen.	Auteure
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie.	Auteure
<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.	Tizaàtarte
<i>Thymus guyoni</i>	Noé	Rare dans le sous-secteur des hauts 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.	Zaàteur
<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
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois.	-
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais.	Djertil Zaitra
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois.	Djertil

1.2.5. Exigence écologique

Les *Thyms* sont des plantes très résistantes, ils se développent bien dans un climat tempéré à chaud, sec, ensoleillé, et partout où les plantes ne semblent pas être ombragées (Dauqan et Abdullah 2017 ; Ghasemi Pirbalouti et *al.* 2015). Les espèces de *Thym* sont plus efficaces dans les sols grossiers et rugueux. Il est très important que les sols soient légers et bien drainés avec un pH de 5 à 8. Bien que le *Thym* se développe facilement, sur les sols calcaires secs et pierreux, il peut être cultivé dans des sols humides et lourds, mais il devient moins aromatique. La période de végétation de cette plante est de 200 à 210 jours (Ghasemi Pirbalouti et *al.* 2015).

1.2.6. Utilisation et activités biologiques

Les espèces de *Thymus* sont considérées comme des plantes médicinales en raison de leurs propriétés pharmacologiques et biologiques.

Le *Thym* est l'une des plantes les plus utilisées comme épices et extraits à fort pouvoir antibactérien et anti inflammatoire dans la pharmacopée traditionnelle (El Ouali Lalami et al. 2013 ; Labiad et al. 2017).

En médecine traditionnelle, cette espèce est très utilisée sous plusieurs formes :

Les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, et le rhume, en tisane tonique, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques. Les feuilles de *Thym* sont riches en huile essentielle dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie (El Ouali Lalami et al. 2013 ; Ghelichnia 2016 ; Labiad et al. 2017).

Son huile est parmi les dix premières huiles essentielles du monde. Elle est antiseptique et utilisée à ce titre pour soigner les infections pulmonaires comme l'asthme et la bronchite. Son action antiseptique s'exerce également sur le système digestif et notamment en cas de diarrhée, il est aussi vermifuge (Dauqan et Abdullah 2017 ; Fadili et al. 2015 ; Mahdavi et Karimzadeh 2010).

De nos jours, le *Thym* est passé d'une herbe traditionnelle à une phytothérapie rationnelle. C'est une source incroyable de fer, de calcium, de manganèse et de vitamine K qui améliore également le flux sanguin et stimule l'ensemble du système. Cette plante a été récemment recommandée comme substitut comme agent de prévention du cancer (Ghasemi Pirbalouti et al. 2015 ; Javed et al. 2013).

Les huiles et les extraits de *Thymus* sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et en parfumerie pour l'aromatisation et la conservation de plusieurs produits alimentaires (Barati et al. 2013). Des études récentes ont montré que les espèces de *Thymus* ont de fortes pouvoir antibactérien, antifongique, antiviral, antiparasitaire, spasmolytique et antioxydantes (Ghelichnia 2016).

2. Métabolites secondaires

Les composés produits par les plantes ont été séparés en métabolites primaires et secondaire. Les métabolites primaires englobent les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques, qui participent à la structure de la cellule végétale. Ces métabolites se trouvent dans toutes les cellules végétales et sont nécessaires à leur croissance et à leur développement.

Par opposition, les métabolites secondaires ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais sont synthétisés à partir de métabolites primaires. Ils ont une répartition limitée au niveau des plantes et sont produits dans un organe ou tissu spécifique. Ils sont emmagasinés surtout dans les vacuoles. Ils jouent un rôle important dans la survie des plantes en fournissant une protection contre les animaux herbivores et contre les maladies, mais ne sont pas essentielles pour la croissance et le développement de base des plantes (Nabors 2008 ; Raven *et al.* 2014).

Les trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes et les substances phénoliques.

2.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal se trouvant dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varient entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper 2010; Waksmundzka-Hajnos et Sherma 2011).

Ils ont diverses fonctions :

- Défense contre les pathogènes.
- Attraction des pollinisateurs.
- Protections des rayonnements UV.
- Molécules de dissuasion alimentaire.
- Rôle structural (ex. lignine, constituante du bois).
- Molécules qui donnent couleur, arômes, parfums aux plantes (Akroum 2011; Touafek 2010).
- Ils constituent environ 40% du carbone circulant dans la biosphère (Nabors 2008).

Un encouragement à la consommation d'aliments d'origine végétale riches en composés phénoliques constitue désormais une des principales recommandations en santé publique. En effet, les polyphénols permettent de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer, les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (Bouchouka 2016).

2.1.1. Structure

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Ils sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou /et de celui d'un poly acétate (Bruneton 2009).

2.1.2. Classification

Ils peuvent être regroupés en plusieurs classes. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette carboné (Tableau 5) (Macheix 1996).

Tableau 5 : Principales classes des composés phénoliques (Kholkhal 2014 ; Macheix 1996).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples
6	C6	Phénols simples	Cathécol, hydroquinone.
7	C6-C1	1/-Acides phénols benzoïques	1/-Ac. gallique, Ac. salysalique, Vanilline. 2/-p-Hydroxybenzoïque.
8	C6-C2	Acétophénonnes	3-acétyl6-méthoxybenzaldehyde.
9	C6-C3	Acides phénols cinnamiques -coumarines	Ac. coumarique, Ac.caféïque. -scopoline.
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine, juglone.
13	C6-C1-C6	Xanthonnes	Bellidifoline, mangocétine, mangiférine.
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Hydrangéol, pinosylvine.

15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, roténoïde, cyanidol daidzeine.
18	(C6-C3) ₂	Lignanes	Matairésinol.
30	(C6-C3-C6) ₂	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, hinokiflavone.
N	(C6-C3-C6) _n	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitanins

Les métabolites secondaires du genre *Thymus* se distinguent principalement en 2 grands groupes : les acides phénoliques, les flavonoïdes.

2.1.3. Biosynthèse

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'aromagenèse :

2.1.3.1. Voie shikimate (l'acide shikimique)

C'est la voie biosynthétique la plus importante et la plus courante. Elle permet de fournir des acides aminés aromatiques, des acides cinnamiques (dérivés de la phénylalanine, tyrosine), de former des phénols C₆-C₁ et des benzoquinones (Figure 3) (Bruneton 2009).

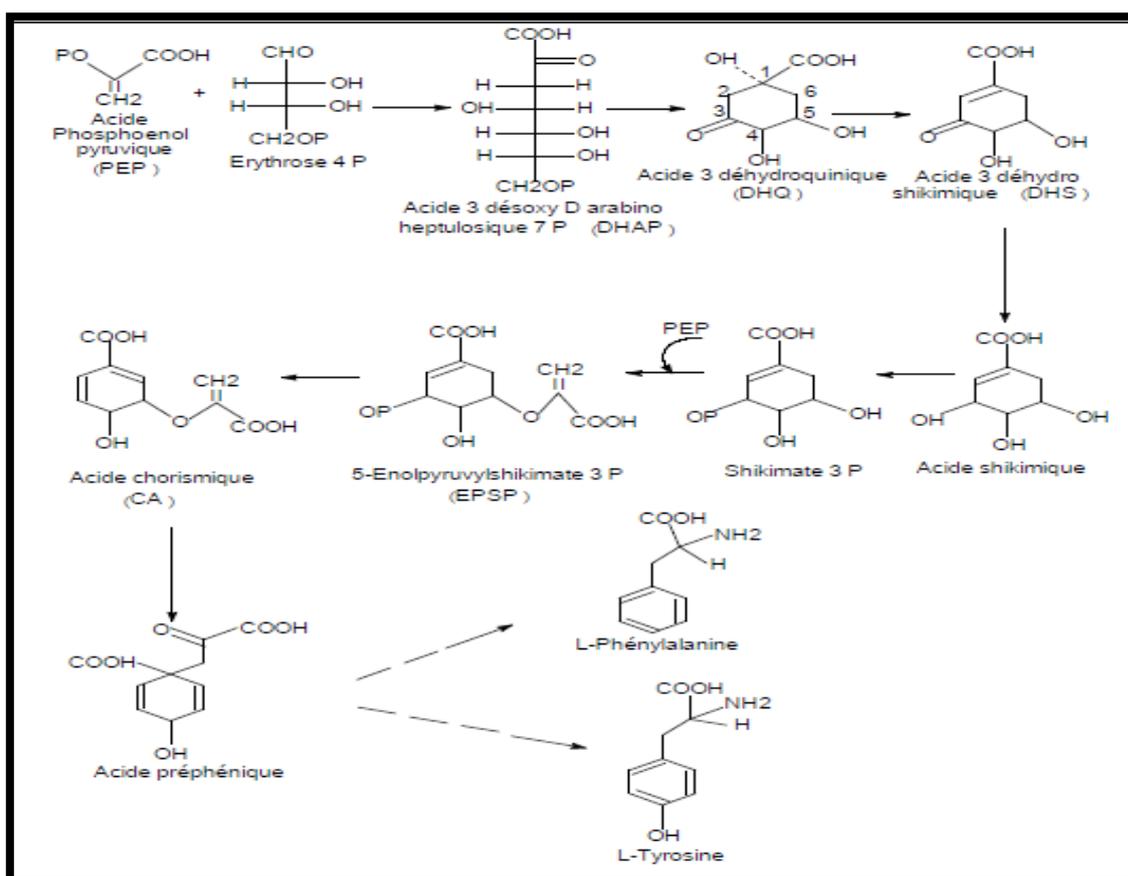


Figure 3 : Voie de shikimate (Floss 1997).

2.1.3.2. Voie de l'acide malonique "malonylpathway"

Ce mode de formation plus secondaire consiste en la cyclisation des chaînes polycétonique. Elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétates (Figure 4) (Merghem 2009).

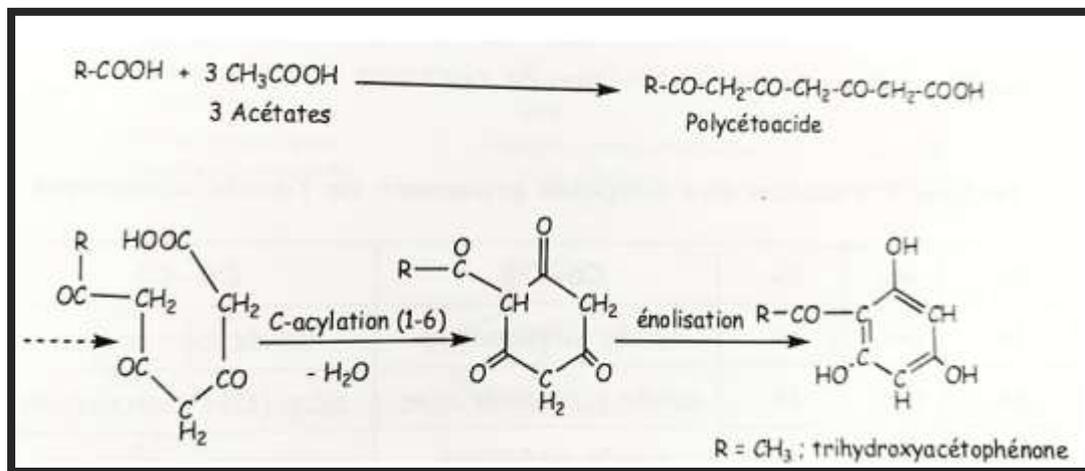


Figure 4 : Synthèse des polycéto-acides (Merghem 2009).

2.2. Acides phénoliques

Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton 1993).

✚ Acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

Les acides phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (Tableau 6) (Bruneton 2009).

Tableau 6 : Principaux acide phénoliques dérivés de l'acide benzoïque (Merghem 2009).

Structure	R3	R4	R5	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide benzoïque
	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	OH	OH	Acide gallique

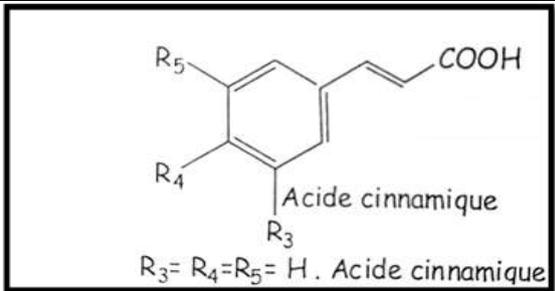
R₃=R₄=R₅=H. Acide benzoïque.

✚ Acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique

La plupart des acides phénols en C₆-C₃ (acides p-coumarique, caféique, férulique, sinapique) (Tableau 7) ont une distribution très large. Ces composés sont rarement présents se forme libre, ils sont souvent sous forme estérifiées :

- Esters d'alcools aliphatiques.
- Esters de l'acide quinique (l'acide chlorogénique).
- Ils peuvent également être amidifiés, ou combinés avec des sucres : ester du glucose (c'est le cas le plus fréquent) ou éther du glucose (Bruneton 2009).

Tableau 7 : Principaux acide phénoliques dérivés de l'acide cinnamique (Merghem 2009).

Structure	R3	R4	R5	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p-coumarique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique
	OH	OH	H	Acide caféique

2.2.1. Activités biologiques des acides phénoliques

Les acides phénoliques présentent un fort potentiel en tant que composés antioxydants, qui ont la capacité de piéger les radicaux libres. Ils jouent un rôle reconnu dans le maintien d'un bon état de santé et pourraient participer à la prévention de diverses maladies dégénératives, telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer, liées à un excès de radicaux et au stress oxydatif (Bruneton 2009 ; Medina-Torres et *al.* 2017 ; Saxena et *al.* 2012).

Les acides phénoliques présentent également des activités anti-inflammatoires et anti carcinogène (Koshihara et *al.* 1984).

2.3. Flavonoïdes

2.3.1. Structure

Le terme flavonoïde provient du latin "flavus", signifiant "jaune". Ils constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents. Largement répandus dans le règne végétal. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Hernández 2009 ; Wilson 1987).

Tous les flavonoïdes ont le même élément structural de base à savoir l'enchaînement 2 phénylchromane C₆-C₃-C₆. Ils possèdent un squelette à quinze atomes de carbone constitué de deux noyaux benzéniques (A et B, comme indiqué sur la Figure 5) reliés par un cycle pyrane hétérocyclique (C) (Bruneton 2009 ; Kumar *et al.* 2013 ; Saxena *et al.* 2012).

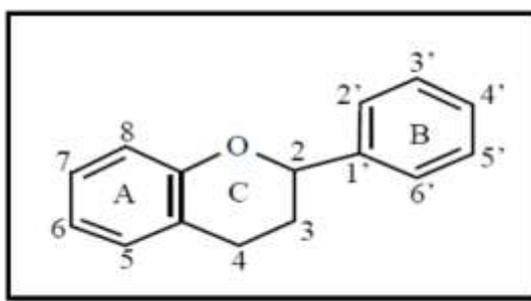


Figure 5 : Squelette de base des flavonoïdes (Khan *et al.* 2014).

2.3.2. Classification

Flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs classes sur la base :

- Du degré d'oxydation hétérocyclique en C.
- De la position des groupes hydroxyles.
- Du degré de polymérisation (Galland *et al.* 2014).

Les plus importants sont :

- 2-phénylbenzopyriliums : comme les anthocyanes.
- 2-phénylchromones : flavones, flavonols et leurs dimère o flavanones dihydroflavonols (dérivés 2,3-dihydrogénés).
- 2-phénylchromanes : flavanes, flavan-3-ols, et flavane-3,4-diols.
- Chalcones et dihydrochalcones (le cycle pyranique est ouvert).
- 2-benzylidène-coumaranones (aurones) (Figure 6) (Bruneton 1993).

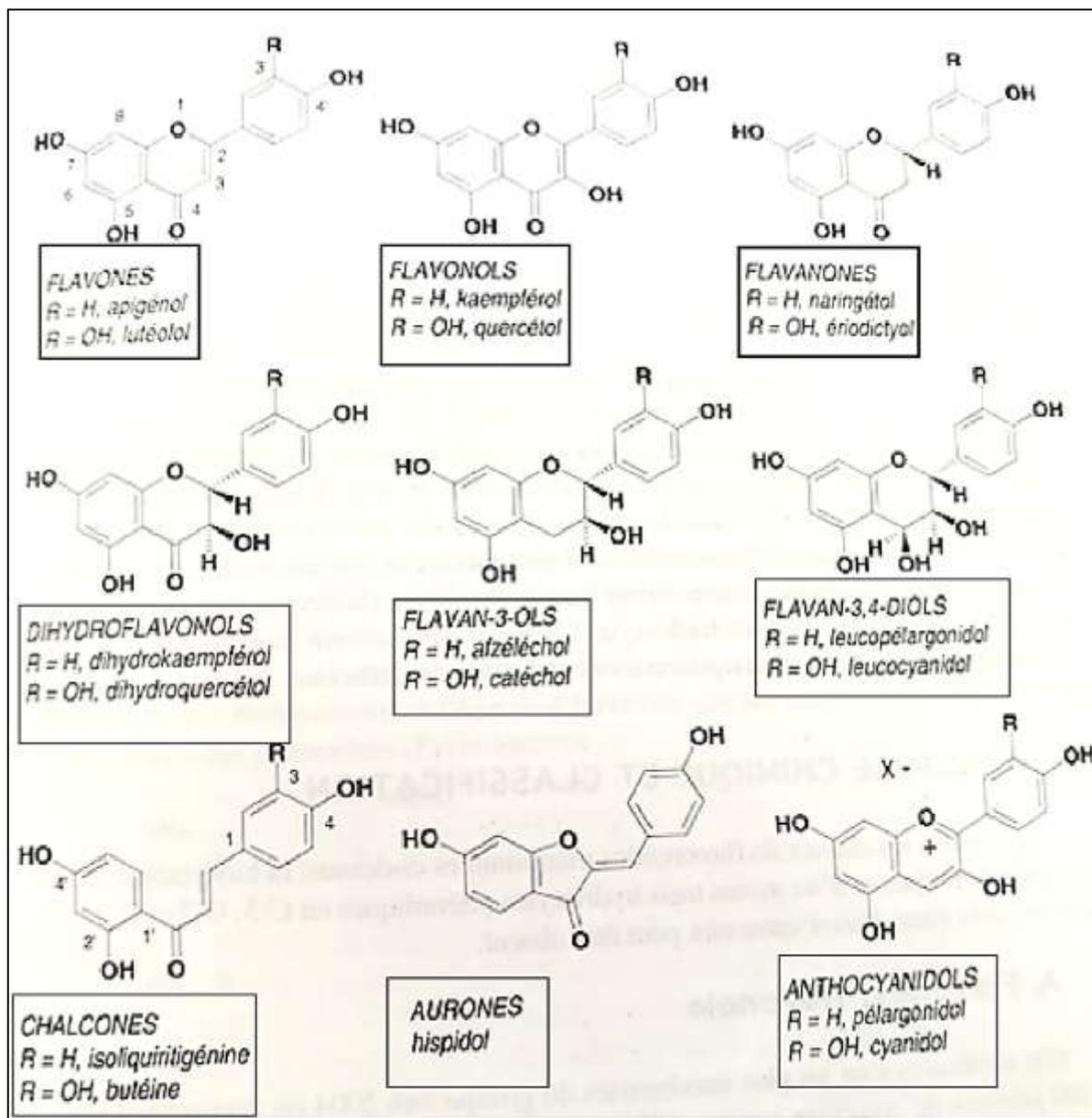


Figure 6 : Structure de base des différentes classes des flavonoïdes (Bruneton 2009).

2.3.3. Distribution et localisation

Les flavonoïdes sont des pigments solubles dans l'eau. Dans la plupart des cas ils sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones, notamment les flavonoïdes simples et polyméthylés, sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces, les bourgeons (Iwashina 2000 ; Raven *et al.* 2014).

2.3.4. Biosynthèse

La biosynthèse des flavonoïdes fait intervenir des voies communes : la voie shikimique grâce à la phénylalanine ammonialyase (PAL) (Vogt 2009), et la voie acétate grâce à la chalcone synthase (CHS) (Dixon *et al.* 1999).

La première étape intervenant dans la biosynthèse des flavonoïdes est une étape commune à beaucoup d'autres métabolites, elle est désignée sous le nom générique de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes (Figure 7). Elle permet la synthèse d'acide *p* coumarique et d'acide cinnamique. L'enzyme, permettant la désamination non-oxydative de la phénylalanine et donc la formation de l'acide cinnamique, est nommée PAL pour phénylalanine ammonia lyase (Vogt 2009).

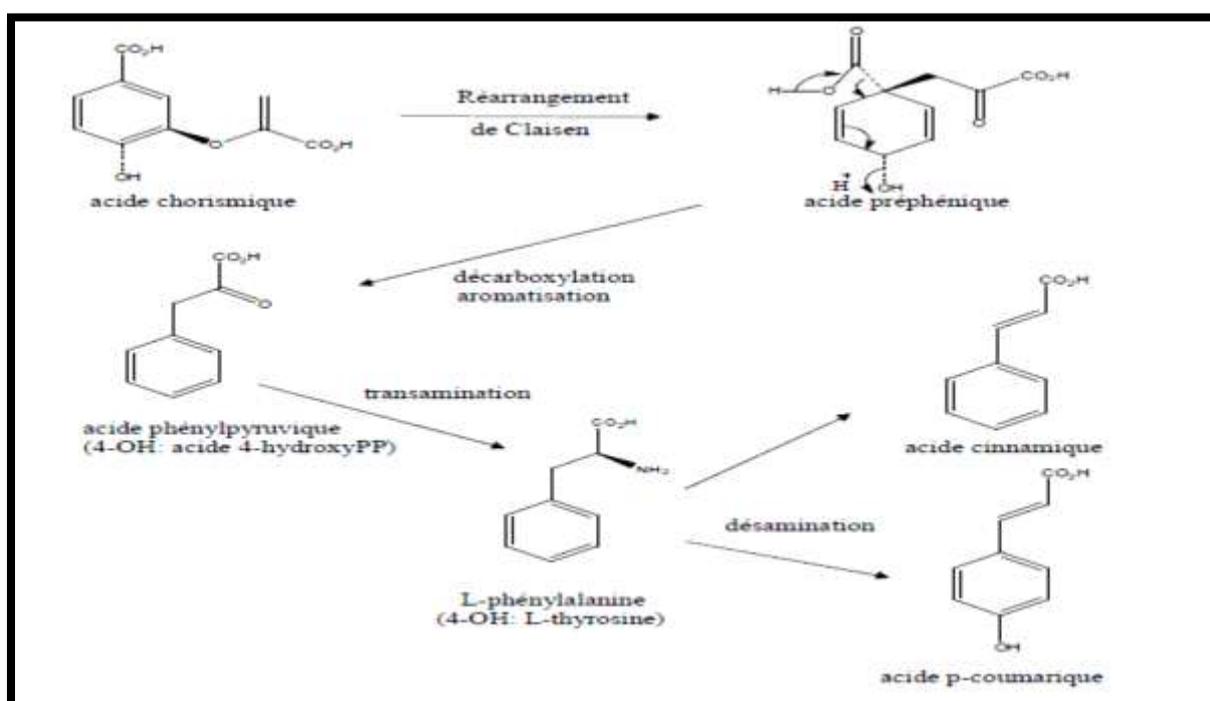


Figure 7 : Biosynthèse des dérivés cinnamiques.

Le cytochrome P450 cinnamate-4-hydroxylase (C4H), permet d'ajouter une fonction hydroxyle en position 4 du noyau aromatique et d'obtenir l'acide *p*-coumarique (Figure 8). Le *p*-coumaroyl CoA est synthétisé *via* l'action de la 4-coumaroyl CoA ligase (4CL). Le *p*-coumaroyl CoA conduit à la synthèse de nombreux métabolites secondaires aromatiques. Une unité *p*-coumaroyl CoA va former le cycle B et la chaîne propanique, alors que le cycle A est formé par condensation de 3 unités C2 (sous forme de 3 malonyl- CoA, formés à partir de l'acétate *via* une forme cytoplasmique de l'acétyl CoA carboxylase). Ces condensations sont catalysées par la chalcone synthase (CHS), enzyme clé dans la formation des flavonoïdes qui conduit à un précurseur, une chalcone. (Dixon *et al.* 1999).

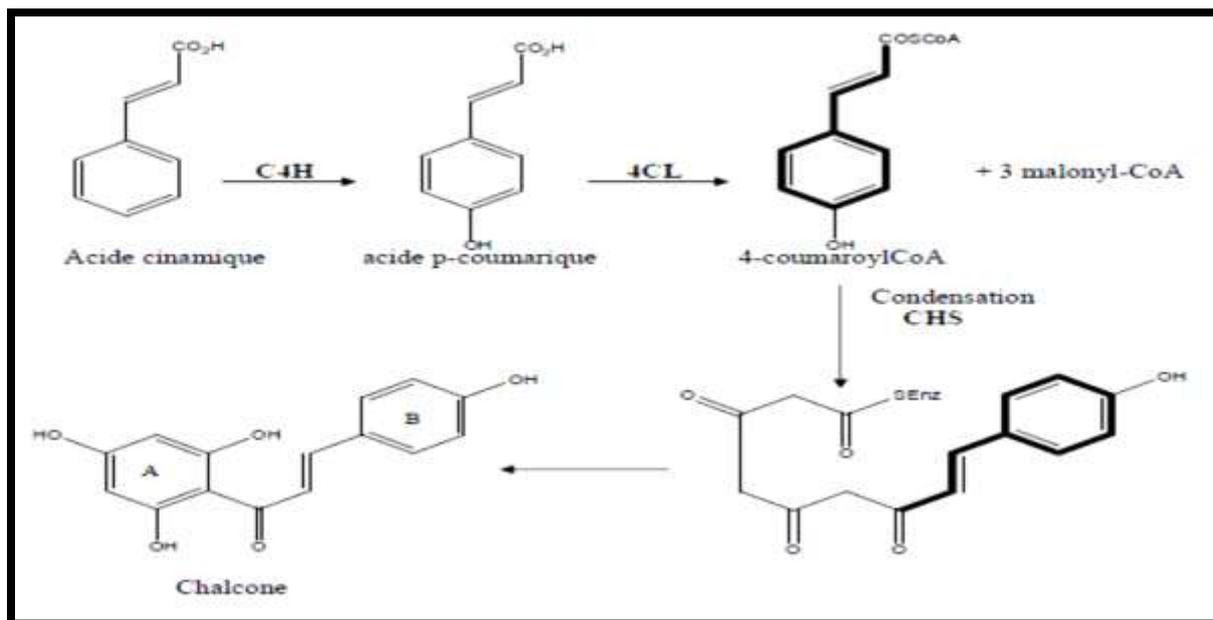


Figure 8 : Formation de chalcone à partir des acides cinnamiques.

Les différentes classes de flavonoïdes sont biosynthétisées à partir d'une chalcone (Figure 9). La chalcone néoformée donne une 2S-flavanone (la naringénine), par une transformation stéréospécifique catalysée par une chalcone isomérase (CHI) (Fowler et *al.* 2009). La naringénine est au centre de la synthèse de différentes classes de flavonoïdes par l'action d'enzymes diverses (Figure 9). Les flavones synthases (FSI) introduisent une double liaison en 2,3 pour donner une flavone. La flavanone-3-hydroxylase (FHT) catalyse l'hydroxylation en position 3 d'une 2S-flavanone pour donner un (2R,3R) -dihydroflavonol. Le dihydroflavonol peut ensuite être transformé en flavonol par la flavonol-synthase (FLS) (Winkel-Shirley 2001).

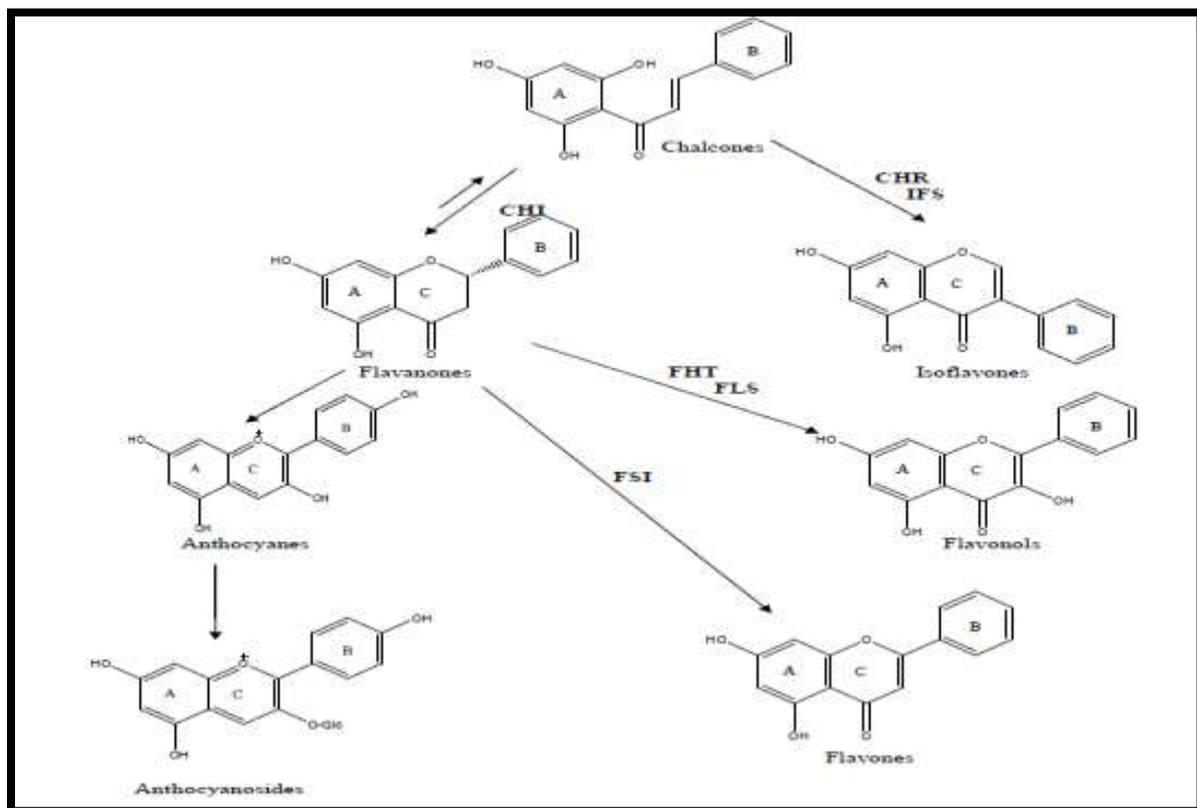
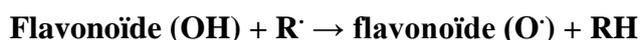


Figure 9: Schéma récapitulatif de la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes.

2.3.5. Activités biologiques des flavonoïdes

🚩 Activité antioxydante

Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres, radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes (O_2^-) et radicaux peroxy lipidiques, selon la réaction suivante :



Les radicaux libres sont générés par notre organisme en réponse aux agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) et qui favorisent le vieillissement cellulaire. Ces composés renforcent nos défenses naturelles en protégeant les constituants tissulaires (Ghedira 2005; Messai 2011).

🚩 Activité anti-inflammatoire

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique (acide gras $\text{C}_{20} : 4$) se métabolise respectivement en prostaglandines plus thromboxane et en leucotriènes, molécules fortement impliquées dans le processus inflammatoires. In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la

lipoxigénase qui est inhibée préférentiellement. En outre, d'autres flavonoïdes tels que la lutéoline, la morine, l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase (Ghedira 2005 ; Yakhlef 2010).

✚ **Activité antibactérienne**

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* etc...) avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve (Akroum 2011).

✚ **Activité antivirale**

Les flavonoïdes sont aussi connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, l'adénovirus (ADV) (Akroum 2011).

✚ **Activité anti-allergique**

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca⁺² ATPase. En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (Ghedira 2005).

✚ **Autres activités biologiques**

Aussi, plusieurs études biologiques ont montré que les flavonoïdes présentent des nombreuses activités tel que :

- Anti-cancérogène et inhibitrice de la croissance des cellules tumorale in vitro.
- Antifongique.
- Antiparasitaire.
- Insectide (Azzouzi 2016).

2.4. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes, appelées couramment essences, elles sont des produits odorants volatiles, extraits de différentes parties de plantes (Bonnafous 2013 ; Hilan et *al.* 2011 ; Tongnuanchan et *al.* 2014), possèdent un indice de réfraction élevé et ont une densité inférieure à celle de l'eau, tandis que plusieurs exceptions existent. Elles sont aussi solubles dans les alcools et la plupart des solvants organiques (Li et *al.* 2014).

Les huiles essentielles sont couramment un mélange de terpènes, principalement monoterpènes et sesquiterpènes, composé aromatique et composé aliphatique (Ahmad et al. 2014).

L'activité biologique des huiles essentielles dépend de leur composition chimique (Jovanka et al. 2011). A été reconnu dans le passé, les huiles essentielles étaient uniquement utilisées à des fins thérapeutiques directement pour les humains et les animaux (Soto Mendivil et al. 2006). Plus récemment, les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont également utilisées dans l'industrie alimentaire pour prolonger la durée de conservation des produits alimentaires, et pour aromatiser les aliments et les boissons. Elle est utilisée dans la cosmétique, et la parfumerie pour préparer des savons, des désinfectants, antioxydants et produits similaires (Hesham et al. 2016 ; Soto Mendivil et al. 2006).

Le Thymol et le carvacrol sont les composés principaux dans la plupart des huiles essentielles de *Thymus* (Ghasemi Pirbalouti et al. 2015).

2.5. Métabolites secondaires isolés de genre *Thymus*

Un grand nombre d'espèces de *Thymus* ont fait, à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés les travaux phytochimiques effectués sur le genre *Thymus* ont permis l'isolement, des acides phénoliques et de flavonoïdes.

2.5.1. Acides phénoliques

Nous présentons dans le tableau 8 les acides phénoliques dans le genre *Thymus* :

Tableau 8 : Acides phénoliques de genre *Thymus* (Zeghib 2013).

Acides phénoliques	L'espèce de <i>Thymus</i>
Dérivés de l'acide caféique	
Acide caféique	<i>T.vulgaris</i> L.
	<i>T.serpyllum</i>
	<i>T.quinquecostatus</i>
Acide chlorogénique	<i>T.vulgaris</i>
	<i>T.serpyllum</i>
	<i>T.webbianus</i>
Acides caféique éthyle ester	<i>T.serpyllum</i>
Acides caféique glucoside	<i>T.vulgaris</i>

Revue bibliographique

Acides dicafféoylquinique	<i>T. vulgaris</i>
	<i>T. webbianus</i>
Acide rosmarinique	<i>T. vulgaris L.</i>
	<i>T. serpyllum</i>
	<i>T. sipyleus</i>
	<i>T. quinquecostatus</i>
	<i>T. capitatus</i>
Acide lithospermique	<i>T. serpyllum</i>
Glucoside acide rosmarinique	<i>T. vulgaris L.</i>
3'-O-(8''-Z-cafféoyl)aciderosmarinique	<i>T. vulgaris L.</i>
Rosmarinate de méthyle	<i>T. vulgaris L.</i>
Acide salvianolique I	<i>T. vulgaris L.</i>
Acide salvianolique K	<i>T. vulgaris L.</i>
<i>Autres acides phénoliques</i>	
Acides gentisique	<i>T. vulgaris L.</i>
Acide protocatechuique	<i>T. vulgaris L.</i>
Acide hydroxybenzoïque	<i>T. vulgaris L.</i>
	<i>T. serpyllum</i>
Acide férulique	<i>T. vulgaris L.</i>
p-Acide coumarique	<i>T. vulgaris L.</i>
	<i>T. webbianus</i>
	<i>T. serpyllum</i>
Acide gallique	<i>T. vulgaris L.</i>
	<i>T. webbianus</i>
Acide syringique	<i>T. vulgaris L.</i>
Acide hydroxybenzoïque -O-hexoside	<i>T. vulgaris L.</i>
Acide vanillique	<i>T. vulgaris L.</i>
	<i>T. serpyllum</i>

2.5.2. Flavonoïdes

Le tableau 9 rassemble un nombre d'espèces de genre *Thymus*, et leur contenu flavonique :

Tableau 9 : Quelques flavonoïdes isolés d'espèces de genre *Thymus* (Benayache 2013).

Espèce	Composés isolés
<i>Thymus vulgaris</i>	Acacétine
	Hispiduline
	Cirsimaritine
	Xanthomicrol
	Scutellarine
	Cirsilinéol
	Thymonine
	8-methoxycirsilinéol
	Kampférol
	Quercétine
	rutine
<i>Thymus serpyllum</i>	Acacétine
	Genkwanine
	Hispiduline
	Xanthomicrol
	Scutellareine
	Lutéoline
	Thymonine
	8-methoxycirsilinéol
	Quercétine
<i>Thymus algeriensis</i>	Kampférol
	Quercétine
	Isorhamnétine
	5,3' di-hydroxy-3, 7,4',5'- tetraméthoxyflavone
	Galangin
	Chrysine

<i>Thymus hirtus</i>	Apigénine
	Lutéoline
	Diosmétine
<i>Thymus herba barona</i>	Genkwanine
	Xanthomicrol
	Sorbifoline
	Thymusine
	Cirsilinéol
	Cirsiliol
	8-méthoxycirsilinéol
	Naringénine
	Eriodictyol
<i>Thymus capitatus</i>	Lutéoline-7 rutinoside
	Vicenin-2

3. Activités Biologiques

Un certain nombre de plantes médicinales ont été consacrées pour traiter différentes maladies chez l'homme et les animaux, ceci est dû à la présence des molécules bioactives (Bourgou et *al.* 2016).

Ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur. Le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant (Cole et *al.* 2005 ; Liu 2003 ; Riboli et Norat 2003). Certaines études ont aussi montré que les antioxydants peuvent retarder la progression de la maladie d'Alzheimer qui est fréquemment observée chez les personnes âgées (Howes et *al.* 2003).

Des études récentes ont montré que les espèces de *Thymus* ont des activités antibactériennes, antifongiques et antioxydantes (Ghasemi Pirbalouti et *al.* 2015).

3.1. Activité antioxydante

Radicaux libres, espèces réactives d'oxygène (ERO), stress oxydant et antioxydants, deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels et même pour le grand public (Favier 2003).

Radicaux libres

Par définition, les radicaux libres sont des entités chimiques (Espèces, atomes, molécules ou des fragments moléculaires) possédant un électron (ou plus) non apparié « Célibataire » sur la couche périphérique du squelette moléculaire. Cet électron naît suite à un apport d'énergie susceptible et suffisant pour se réapparier, qui a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité, déstabilisant ainsi d'autres molécules.

Les radicaux libres sont considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Les espèces réactives de l'oxygène, incluent des ERO comme l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) produit au cours du métabolisme mitochondrial, le radical hydroxyle (OH^\cdot) qui réagit avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose, c'est un dérivé de l'anion superoxyde, le radical hydroperoxyde (HO_2^\cdot), le radical peroxyde (RO_2^\cdot), le radical alkoxyde (RO^\cdot). Aussi d'autres espèces dérivées de l'oxygène, sont non-radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux ($HOCl$), l'Ozone (O_3), l'oxygène singulet (O_2) et le peroxyde d'azote ($ONOO^\cdot$). Ces composés ne sont pas réactifs mais peuvent être des précurseurs de radicaux.

Par ailleurs, tous les radicaux libres ne sont pas des dérivés de l'oxygène, les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les ERO. Ils peuvent, à leur tour, réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs. Nous citerons par exemple, les acides gras peroxydés qui sont le résultat de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques (Favier 2003).

Antioxydants

Un Antioxydant ou « antioxygène » est une molécule capable d'empêcher l'oxydation d'autres molécules. Selon Halliwell c'est toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat (Defraigne et Pincemail 2008 ; Halliwell et Gutteridge 1989 ; Halliwell 1995 ; Sies 1993).

3.1.1. Sources d'antioxydants

Antioxydants enzymatiques

Il y a plusieurs systèmes d'enzymes qui catalysent des réactions pour neutraliser des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène. Ces enzymes représentés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Antioxydantes enzymatiques.

Nom enzyme	Mécanisme d'action	Réactions enzymatiques
<p>Superoxydes dismutases (SOD) (EC 1.15.1.1) (Matés et <i>al.</i> 1999)</p>	<p>Sont des métalloenzymes.</p> <p>Il existe 3 isoenzymes (SOD 1 à cuivre et a zinc cytosolique, SOD 2 à manganèse, mitochondriale, et SOD 3 à cuivre et a zinc, extracellulaire).</p> <p>Ils catalysent la dismutation des ions superoxydes en molécules peroxyde d'hydrogène et oxygène (Beaudeau et Durand 2011).</p>	<p>$O_2\bullet^- + O_2\bullet^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$</p> <p>(Matés et <i>al.</i> 1999)</p>
<p>Catalase (EC 1.11.1.6) (Matés et <i>al.</i> 1999)</p>	<p>Catalases à cofacteur fer.</p> <p>Présentes dans les hématies et les peroxysomes hépatiques (favier 2003).</p> <p>Capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Beaudeau et Durand 2011).</p>	<p>$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$</p> <p>(Matés et <i>al.</i> 1999)</p>
<p>Glutathion peroxydase(GPX) (EC 1.11.1.19) (Matés et <i>al.</i> 1999)</p>	<p>Glutathions peroxydases à cofacteur sélénium (favier 2003).</p> <p>Localisée dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries.</p> <p>Permettent de réduire H_2O_2 en H_2O en parallèle de l'oxydation du glutathion (Thérond 2003).</p>	<p>$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$</p>

❖ **Antioxydants non enzymatiques**

Ce groupe de systèmes anti-oxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer : le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine, la mélatonine, l'acide lipoïque (Attou 2011 ; Meziti 2009).

D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), ou les caroténoïdes, agissent en piégeant les radicaux et en

neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (Attou 2011). D'autres composés tels que les huiles essentielles, les alcaloïdes, les polyphénols, les phyrates et les flavonoïdes, apportés également par l'alimentation, jouent un rôle similaire de piègeurs de radicaux libres (Meziti 2009).

❖ Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques tels que :

- ✓ Hydroxyanisolebutylé (BHA).
- ✓ Hydroxytoluène butylé (BHT).
- ✓ Tert-butylhydroquinone (THBQ).
- ✓ Gallate de propyle (GP) (Hudson 1990).

3.1.2. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes existent dont :

3.1.2.1. Méthode du DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (Figure 10). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Athamena *et al.* 2010 ; Fadili *et al.* 2017).

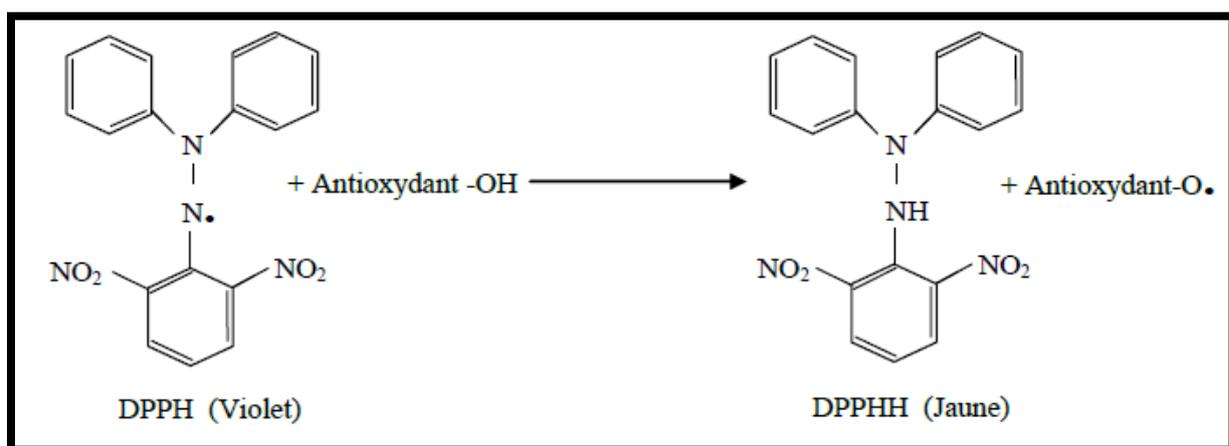


Figure 10 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant (Talbi *et al.* 2015).

3.1.2.2. Piégeage de l'ABTS^{•+}

Dans la méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS^{•+}, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox® (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine ou horseradish peroxidase) en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse ou persulfate de potassium). Le radical ABTS^{•+}, en contact avec un donneur de H[•] conduit à l'ABTS⁺ (Figure 11) et à la décoloration à 734 nm de la solution (Marc *et al.* 2004).

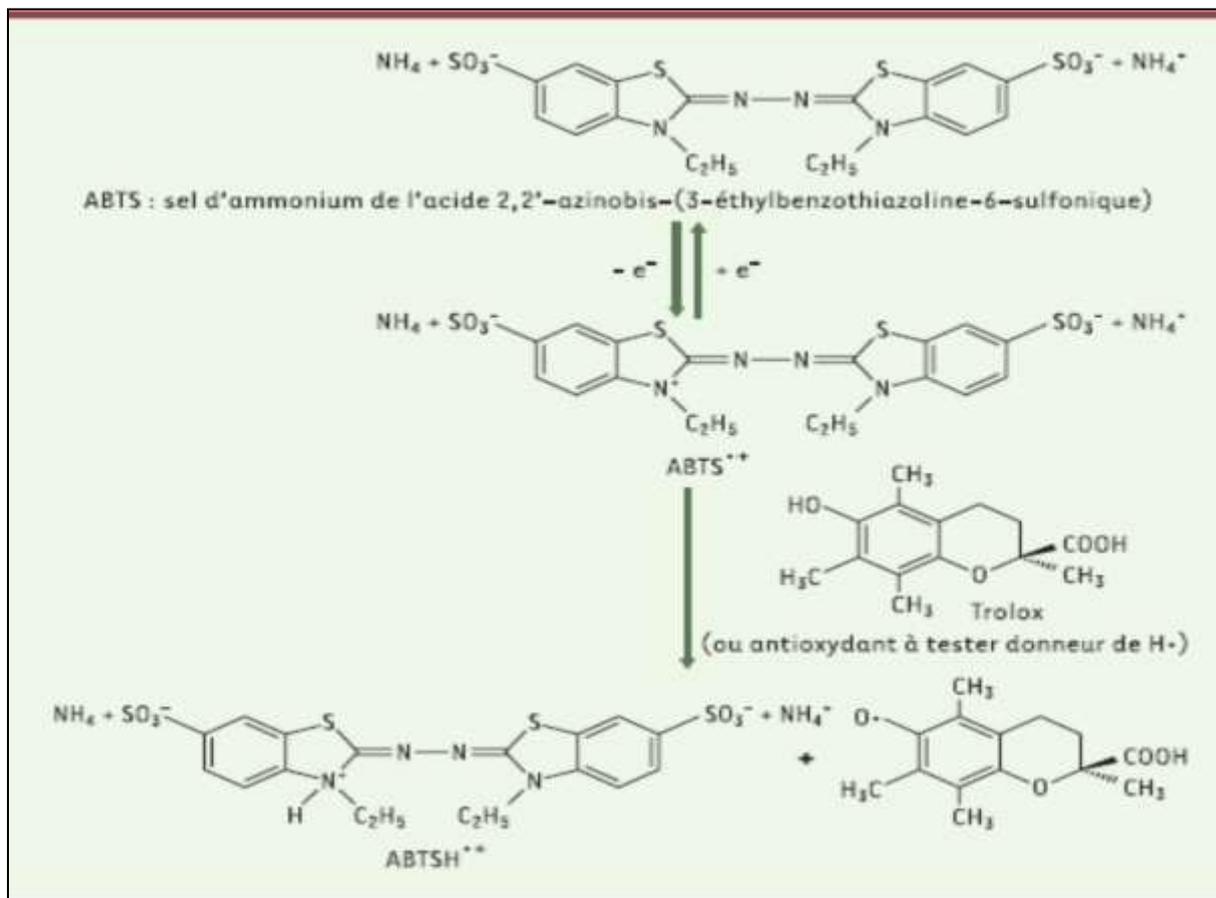


Figure 11 : Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Marc *et al.* 2004).

3.1.2.3. Méthode du CUPRAC

La méthode CUPRAC (Cupric ion reducing antioxidant capacity) est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproéne (NC), cuivre (Cu^{+2}) $\text{Nc}_2\text{-Cu}^{+2}$.

En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproéne est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 450 nm. Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$, produisant ainsi un complexe chromogène de $\text{Cu}^{+1}\text{-Nc}$ qui absorbe à 450 nm (Figure 12) (Apak *et al.* 2004).

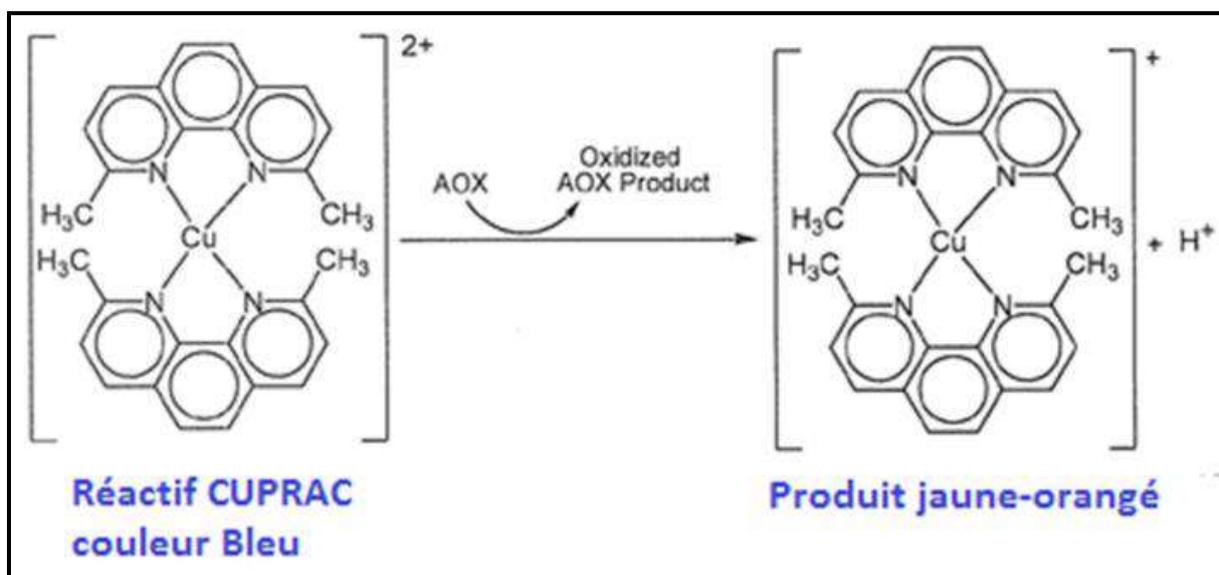


Figure 12 : Réduction du complexe chromogène de $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$.

3.2. Activité anticholinestérase

La maladie d'Alzheimer est la forme de démence qui affecte plus de 35 millions de personnes dans le monde, et ce nombre est estimé pour atteindre 65,7 millions d'ici 2030 (Singhal *et al.* 2012).

Dans la Maladie d'Alzheimer, les cellules nerveuses se détériorent progressivement, surtout celles produisant de l'acétylcholine, substance importante pour la mémoire. On a montré qu'il existe une baisse de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau de patients atteints de maladie d'Alzheimer. Les anticholinestérasiques diminuent l'activité de l'acétylcholinestérase, enzyme détruisant l'acétylcholine. Leur action favorise donc l'élévation de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau. L'activité

Acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase est déterminée par la méthode d'Ellman (Figure 13) (Ellman *et al.* 1961).

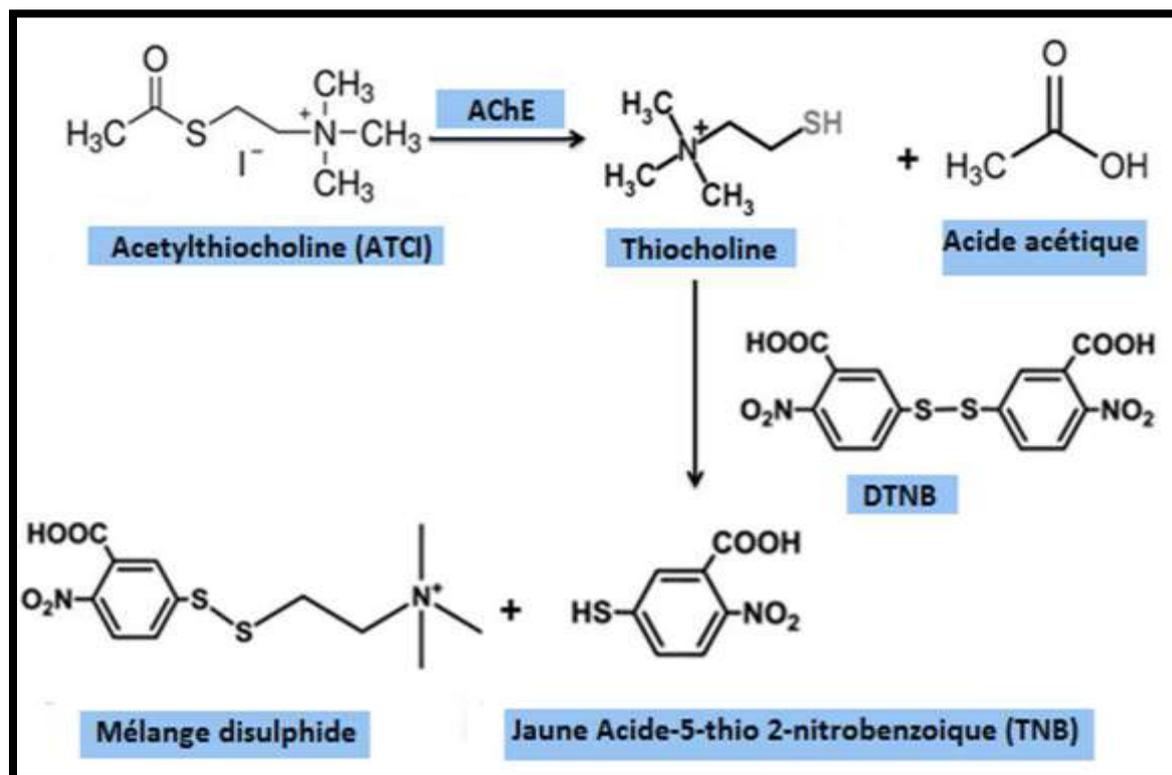


Figure 13 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman's.

3.3. Activité antimicrobienne

La détermination *in vitro* de l'activité antimicrobienne utilise la méthode de diffusion sur disque ou la méthode de diffusion par puits (Bendif 2017).

La technique de Vincent repose sur la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible (Heni 2016).

L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits (ou des disques) après 24 h d'incubation à la température adéquate (Bouhdid *et al.* 2006). Ainsi, les souches bactériennes seront qualifiées de sensibles, très sensibles, extrêmement sensibles, ou résistantes (Heni 2016).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Notre travail concerne des extraits d'une plante appartenant au genre *Thymus* (lamiaceae) récolté dans la région du centre d'Algérie. Ces derniers ont été mis à notre disposition par l'équipe de recherche du Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (LOST) sous la direction du Prof Z. kabouche.

➤ Les extraits sont préalablement préparés comme suit :

La partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs) de la plante est pulvérisée et mise à macérer dans un mélange éthanol : eau 80 : 20. Après filtration et évaporation à sec un extrait éthanolique (ETOH) est obtenu.

Par la suite une extraction liquide /liquide est réalisée par épuisement par des solvants à polarité croissante (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) permettant l'obtention de l'extrait chloroformique (CHL).

2. Caractérisation quantitative des extraits

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de biochimie au sein du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) - Constantine.

L'analyse quantitative des extraits de genre *Thymus*, nous permet d'avoir une estimation sur la teneur des phénols totaux et des flavonoïdes dans nos extraits. La teneur en polyphénols totaux est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, et les flavonoïdes sont quantifiés parla méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

2.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ **Principe**

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) (Singleton et Rossi 1965).

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

➤ Protocole

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon une méthode décrite par Muller et *al.* 2010, avec légères modifications.

1 mg d'extrait est dissout dans un volume de 1 ml de méthanol.

A un volume de 20 µl d'échantillon, sont ajoutés 100 µl de FCR dilué 10 fois dans l'eau distillée, puis 75 µl de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5 % dans les puits d'une microplaque de 96 puits.

Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2h à température ambiante, puis la lecture est faite à une longueur d'onde de 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). Les tests ont été effectués trois fois pour une fiabilité des résultats.

La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage, réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (25-200 µg/ml) et dans les mêmes conditions que les extraits.

Le résultat est exprimé en µg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

2.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans ces extraits (Athamena et *al.* 2010), basé sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes (Topçu et *al.* 2007).

➤ Protocole

La méthode de Topçu et *al.* 2007 est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

1 milligramme d'extrait est dissout dans un volume de 1 ml de méthanol.

A un volume de 50 µl d'échantillon, on ajoute 130 µl (MeOH), 10 µl de potassium acétate (CH_3COOK) préparé dans l'eau et 10 µl de la solution aqueuse de nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$).

L'absorbance est lue à 415 nm, après incubation à température ambiante pendant 40 min.

Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 µl extrait + 150 µl méthanol).

La quantification des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (25-200 µg/ml), comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en µg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

3. Activités biologiques *in vitro* des extraits

3.1. Evaluation de l'activité antioxydante

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de biochimie au sein du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) - Constantine.

L'étude de l'activité antioxydante des deux extraits de genre *Thymus* est testée selon trois méthodes : piégeage du radical libre DPPH, Piégeage de L'ABTS, méthode CUPRAC.

1 milligramme de chaque extrait (éthanolique, chloroformique) est dissout dans 1ml de méthanol (solution mère). A partir de cette dernière une série de dilution a été préparé selon le Tableau 11.

Tableau 11 : Série de dilution et concentration respective d'extrait.

Extrait (éthanolique, chloroformique)							
Dilution	1/1(solution mère)	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration de la solution (mg/ml)	1	0.5	0.25	0.125	0.00625	0.03125	0.015625
Concentration dans le milieu réactionnel (µg/ml)	200	100	50	25	12.5	6.25	3.125

3.1.1. Activité antiradicalaire du DPPH

➤ Principe

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois 1958), le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (Merouane et *al.* 2014).

➤ Protocole

L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois, une solution de DPPH est préparée par solubilisation de 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol (Figure 14), La solution est gardée à -20 C° à l'abri de la lumière avant l'utilisation.



Figure 14 : Préparation du DPPH.

Dans une microplaque de 96 puits, un volume de 40 μl de différentes concentrations de chaque échantillon est déposé dans chaque puits, un volume de 160 μl de la solution méthanolique de DPPH est additionné par la suite. Après une période d'incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

Le BHT (Hydroxytoluènebutylé) est utilisé comme standards antioxydants.

L'activité anti radicalaire de chaque échantillon est exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH en utilisant la formule suivante (Khantouche et Abderabba 2018) :

$$\% \text{ d'inhibition DPPH} = \frac{A \text{ controle} - A \text{ extrait}}{A \text{ controle}} \times 100$$

A Contrôle est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A Extrait est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

3.1.2. Activité du piégeage du radicale l'ABTS

➤ Principe

Le radical ABTS^{*+} (absorbant à 734nm) est formé par arrachement d'un électron e^- à un atome d'azote de l'ABTS. En présence d'antioxydant donneur de H^{\bullet} , l'atome d'azote concerné piège un H^{\bullet} , conduisant à l' ABTS^+ , ce qui entraîne la décoloration de la solution (Marc et *al.* 2004).

➤ Protocole

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et *al.* 1999. Le radical cationique ABTS^{*+} est produit par la réaction entre 7 mM de l'ABTS dans l'eau et 2,45 mM de persulfate de potassium. Le mélange est mis en incubation, à l'obscurité, pendant 16 heures à température ambiante. Avant l'utilisation du radical ABTS^{*+} la solution obtenue est diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,020$ à 734 nm. 160 μl de la solution de L' ABTS^{*+} sont

ajoutés à 40µl de différentes concentrations. Après 10 min, l'absorbance est mesurée à 734 nm en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits.

Le BHA (Hydroxyanisolebutylé) est utilisé comme standards antioxydants.

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

$$\% \text{ d'inhibition ABTS}^+ = \frac{A \text{ controle} - A \text{ extrait}}{A \text{ controle}} \times 100$$

3.1.3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

➤ Principe

Elle permet de mesurer la réduction des ions cuivriques Cu(II) en ions cuivreux Cu(I) en présence des extraits à tester. Le réactif de cette méthode est beaucoup plus stable que d'autres radicaux, tels que le DPPH et ABTS. La présence des composés réducteurs dans les extraits provoque la réduction de Cu(II) dans le complexe Cu(II)-Nc afin de donner la forme réduite Cu(I)-Nc. La couleur jaune-orange est due au composé Cu(I)-Nc formé.

➤ Protocole

La réduction du cuivre a été déterminée par la méthode CUPRAC décrite par Apak et *al.* 2004. 40 µl de chaque concentration sont rajouté à 60 µl du tampon d'acétate d'ammonium (ACNH₄) à (pH = 7) préparé dans H₂O, Puis 50 µl de la solution aqueuse du chlorure de cuivre (Cu Cl₂, 2H₂O) et enfin 50 µl de la solution éthanolique de la neocuproïne dans chaque puits. La microplaque a été mise à l'abri de la lumière, et après une heure du temps, l'absorbance est mesurée à 450 nm.

La capacité de réduction des extraits est comparée à celles du BHA (Hydroxyanisolebutylé) et BHT (Hydroxytoluènebutylé).

3.2. Activité anti-cholinestérase

➤ Principe

L'acétylcholinestérase hydrolyse le substrat ATCI (Iodure d'acétylthiocholine) en thiocholine et en acétate, produits non colorés. La thiocholine en présence du DTNB (acide 5, 5''-dithiobis-2-nitrobenzoïque) donne un produit jaune, le 5-thio-2-nitrobenzoate, ce qui permet de suivre la cinétique au spectrophotomètre (Mindiediba 2012).

Acétylthiocholine+H₂O $\xrightarrow{\text{AChE}}$ acétate + thiocholine

Thiocholine+DTNB \longrightarrow 5-thio-2-nitrobenzoate+2- nitrobenzoate-Mercaptothiocholine

Jaune

➤ Protocole

L'activité acétylcholinestérase (AChE) a été mesurée par la méthode spectrophotométrique décrite par d'Ellman et *al.* 1961.

Dans une microplaque de 96 puits, 150 µl de tampon phosphate de sodium, 10 µl de chaque concentration et un volume de 20 µl l'AChE sont mélangés et incubés pendant 15 min à 25 C₀, puis 10 µl de DTNB est ajoutés. Ensuite, la réaction est initiée par l'addition de 20 µl l'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM). L'absorbance est mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque à une longueur d'onde de 412 nm, pour 0 min et 15 min.

Le pourcentage d'inhibition de l'AChE a été déterminé par rapport au blanc (méthanol avec le Tampon phosphate) par la formule :

$$(E - S) / E \times 100.$$

E: l'activité de l'enzyme sans extrait.

S: l'activité de l'enzyme avec extrait.

Galantamine : a été utilisé comme composé de référence.

3.3. Activité antimicrobienne

Le teste est réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie université des frères Mentouri Constantine 1.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion par puits (Bendif 2017).

Les souches bactériennes choisies de références ATCC (American Type Culture Collection): *Staphylococcus aureus* (ATCC 653bp) de gram positive, *Escherichia coli* (ATCC 337) de gram négative, *Klebsiella pneumoniae* (704085553) de gram négative, *Bacillus subtilis* (ATCC6633) de gram positive, les souches fongiques sont : *Candida albicans* (ATCC10231), *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC9763).

➤ Protocole

Le milieu de culture approprié à cette étude est le GN (Gélose Nutritif) préparé comme suit : dissoudre 23 g de la gélose déshydratée dans 1 litre d'eau distillée puis on mesure le pH à l'aide d'un pH-mètre, ajuster le pH à l'aide d'une base NaOH ou d'un acide HCl jusqu'au pH=7.00. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, homogénéiser la suspension obtenue avant de répartir puis répartir le volume dans des flacons, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C.

La gélose de Muller -Hinton (milieu spécifique pour les bactéries) prête à l'usage est coulée dans des boîtes de pétrie stériles alors que d'autres est coulées par la gélose Sabouraud (milieu spécifique pour les champignons).

Les souches microbiennes à tester est repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C pendant 24 h afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées.

A l'aide d'un inoculateur nous avons prélevée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et est mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (Na Cl).

L'ensemencement se fait sur des boîtes contenant le milieu gélosé (Mueller Hinton) bien séché, on introduit 120 µl de l'inoculum et à l'aide d'un écouvillon stérile, on fait un étalement uniforme.

A l'aide d'une micropipette ajouter 1ml de l'eau distillé a l'extrait éthanolique, et 1ml du DMSO pour l'extrait chloroformique, agiter les 2 solutions à l'aide d'un agitateur vortex.

Une série de dilution de demi (1/2) a été préparé, afin d'obtenir les différentes concentrations suivantes: 20mg/ml, 10mg/ml, 5mg/ml, 2.5mg/ml.

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, réaliser 4 puits de 6 millimètre de diamètre assez espacés les uns des autres afin d'éviter l'en-chevauchement des zones d'inhibition, puis verser 20 µl de chaque dilution dans les puits.

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits après 24 h d'incubation à 37°.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols est réalisé par spectrophotométrie avec le réactif de Folin Ciocalteu qui, en milieu alcalin, est réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols (Figure 18) (Khantouche et Abderabba 2018). La teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique et chloroformique est calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans les deux extraits.

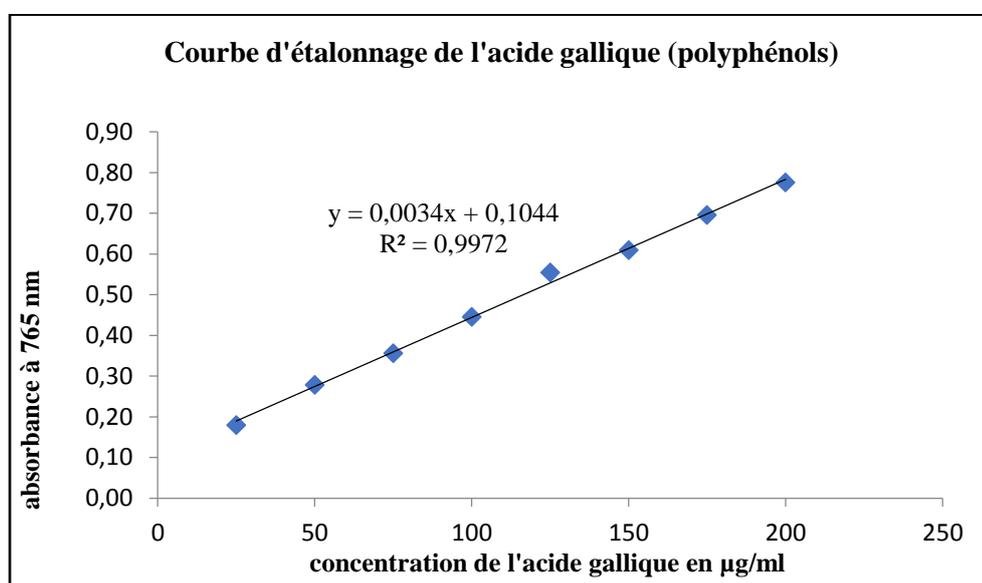


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

Le Tableau 12 représente la teneur en polyphénols totaux dans les 2 extraits chloroformique et éthanolique de notre plante.

Tableau 12 : Teneur en polyphénols totaux dans les extraits éthanolique et chloroformique d'une plante appartenant au genre *Thymus*.

Extraits	Teneur en phénols totaux ($\mu\text{g EAG /mg d'extrait}$).
Ethanolique	386,5 \pm 1,64
Chloroformique	453,5 \pm 15,32

Le résultat obtenu indique que la quantité des composés phénoliques est de $386.5 \pm 1,64$ μg EAG/mg et $453.5 \pm 15,32$ μg EAG/mg respectivement pour l'extrait éthanolique et chloroformique.

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait chloroformique est plus élevée par rapport à l'extrait éthanolique.

A partir de ces résultats on peut dire que l'extrait chloroformique est plus riche en polyphénols que l'extrait éthanolique.

La teneur en phénols totaux de notre extrait éthanolique et chloroformique de *Thymus* est supérieure au taux trouvé par Köksal et al. 2017 et Nieto et al. 2011 qui ont montrés que la quantité de composés phénolique totaux dans L'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris* est de 158.0 ; 101.4 (μg EAG /mg d'extrait).

Une valeur de 21.66 (μg EAG /mg d'extrait) est trouvée par Fadili et al. 2015 avec l'extrait chloroformique de *Thymus Satureioides*.

Concernant l'étude des huiles essentielles de *Thym*, En comparant nos résultats à ceux des travaux antérieurs, nous notons qu'ils sont meilleurs que ceux de Aljabeili et al. 2018 (177.3 μg EAG / mg d'extrait) pour *Thymus vulgaris*.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Fadili et al. 2017).

La teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage (Fadili et al. 2015).

2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Figure 18) (Athamena et al. 2010).

La quercétine est utilisé comme standard, il nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes de l'extrait chloroformique et éthanolique de la plante étudiée qui est exprimée en μg équivalent de la Quercétine (EQE) par milligramme d'extrait.

L'absorbance est lue dans une longueur d'onde de 415 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (Figure 16).

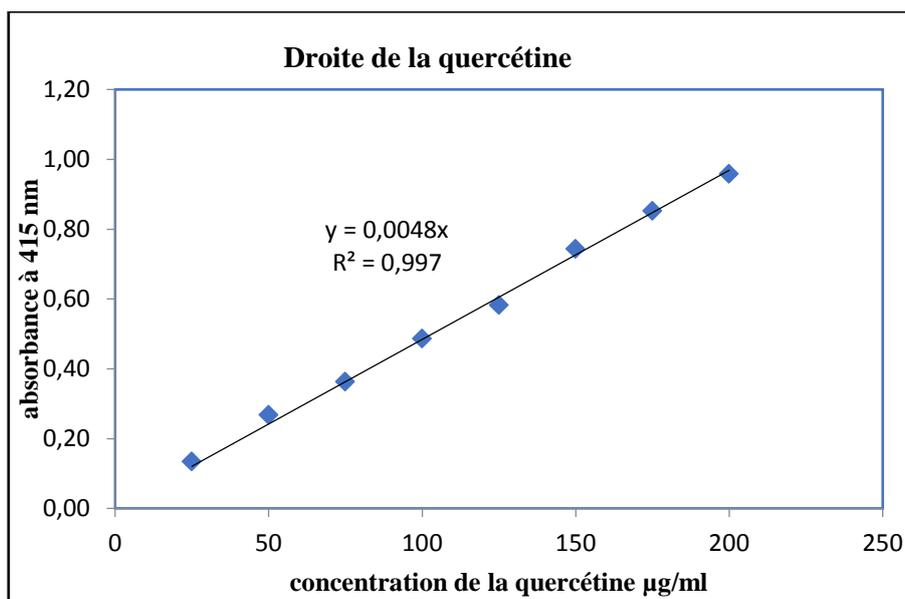


Figure 16: Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Le résultat de la teneur en flavonoïdes des deux extraits étudiés est présenté dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Teneur en flavonoïdes dans l'extrait chloroformique et éthanolique de genre *Thymus*.

Extraits	Teneur en flavonoïdes (µg EQ /mg d'extrait)
Ethanolique	188.25±5.30
Chloroformique	286.62±6.18

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait chloroformique est supérieure à celle de l'extrait éthanolique (Figure 17).

A partir de ces résultats on peut dire que l'extrait chloroformique est plus riche en flavonoïdes que l'extrait éthanolique.

La teneur en flavonoïde de notre extrait éthanolique est supérieure à celle obtenu par Köksal et al. 2017, qui ont trouvé une teneur en flavonoïde pour le *Thymus vulgaris* 36.6ug EQE /mg d'extrait.

Dans notre recherche, non exhaustive, nous n'avons pas trouvé d'étude concernant de taux de flavonoïdes d'un extrait chloroformique chez une plante du genre *Thymus*.

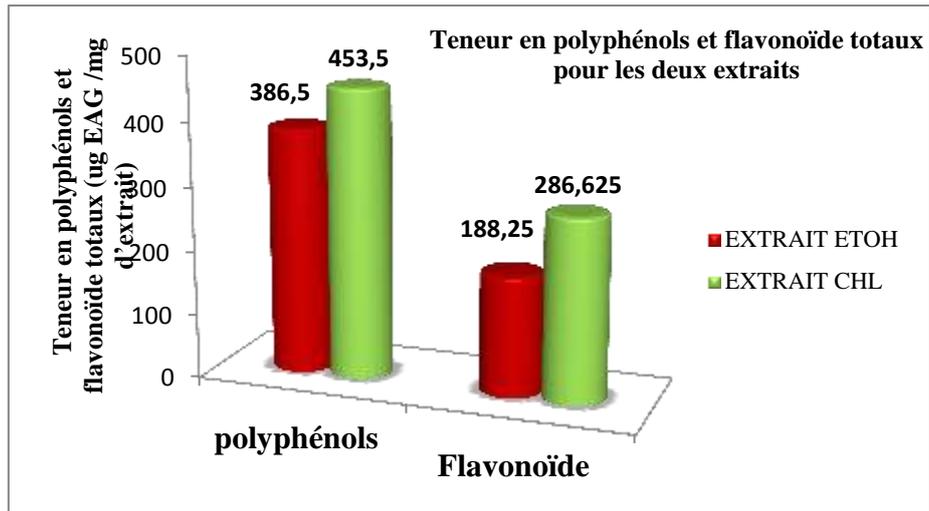


Figure 17: Teneur en polyphénols et flavonoïdes pour l'extrait éthanolique et chloroformique.

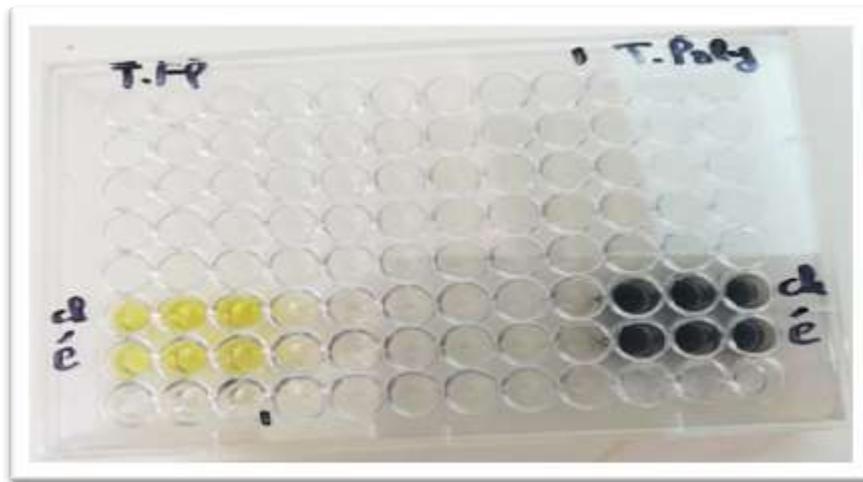


Figure 18 : Microplaque de dosage de polyphénols et flavonoïdes totaux.

3. Activité antioxydante

3.1. Activité antiradicalaire du DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH est évaluée spectrophotométriquement à 517 nm en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne d'un passage de la couleur violette à la couleur jaune (Figure 19) (Besbes Hlila et *al.* 2017).



Figure 19 : Microplaque de dosage du DPPH.

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe du pourcentage (%) d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait (Figure 20,21).

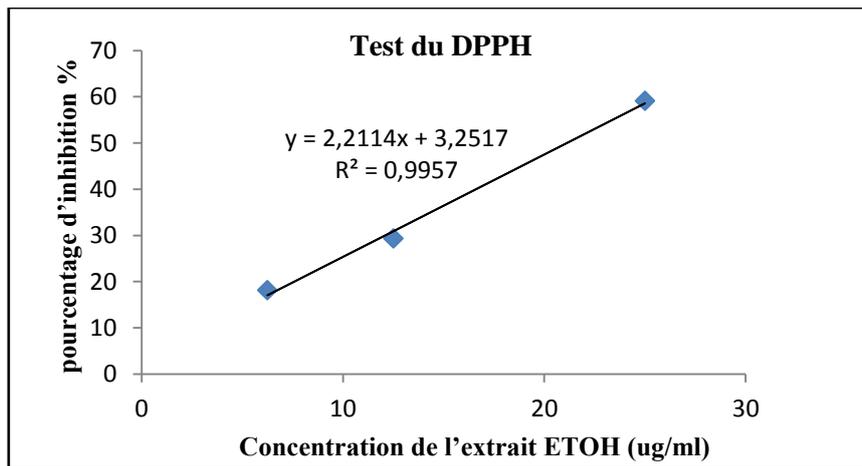


Figure 20: Test DPPH pour l'extrait éthanolique.

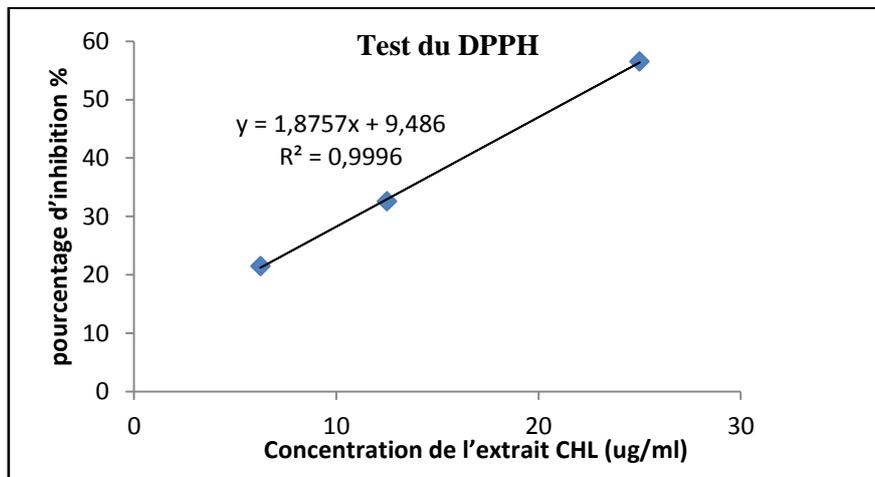


Figure 21: Test DPPH pour l'extrait chloroformique.

Ces résultats, montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits.

Les résultats obtenus sont exprimés selon les valeurs d'IC₅₀ (Tableau 14) en comparaison à celle d'un standard (BHT).

La valeur d'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Ismaili et *al.* 2017).

Les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait éthanolique, chloroformique et BHT qui permettent d'inhiber l'effet de 50% du DPPH sont rapportées dans le Tableau 14 et dans la Figure 22.

Tableau 14 : Valeurs des concentrations d'inhibitions IC₅₀ des 2 extraits testés.

	Extrait éthanolique	Extrait chloroformique	BHT
IC ₅₀ (µg/ml)	21.02	21.52	22.32

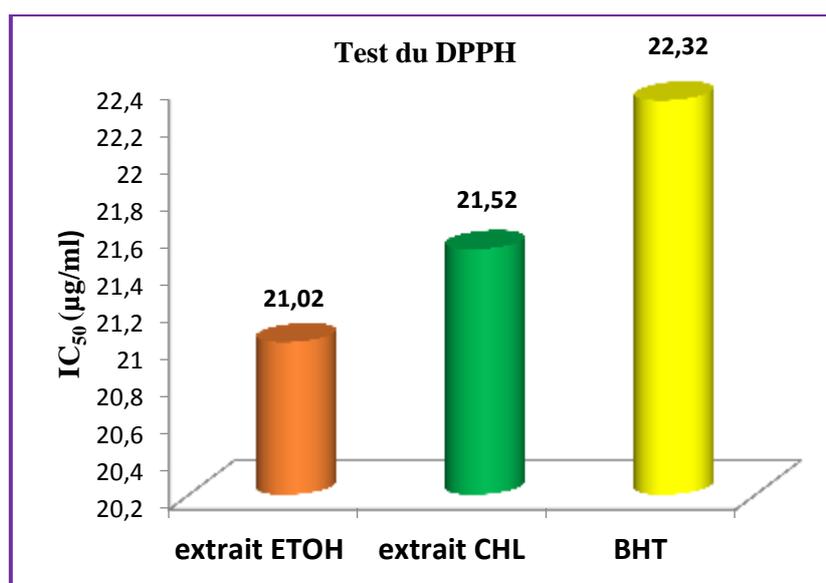


Figure 22 : Valeurs des IC₅₀ du test DPPH.

Ces résultats indiquant clairement que les 2 extraits possèdent une bonne activité antiradicalaire vis-à-vis du DPPH. Avec des valeurs d'IC₅₀ légèrement inférieur à celle du standard, effectivement, l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique est de 21.02 µg/ml et celle de l'extrait chloroformique 21.52 µg/ml.

Il est noté également que le pouvoir antiradicalaire de l'extrait éthanolique est largement intéressant que celle de l'extrait chloroformique.

L'activité antioxydante de notre extrait éthanolique de *Thymus* est nettement inférieure à celle obtenu par Köksal et *al.* 2017, avec une IC₅₀ égale à 12.1 µg/ml.

Nous n'avons pas trouvé de travaux similaires sur le genre *Thymus* ayant étudié le potentiel DPPH d'un extrait chloroformique.

Cependant, des études menées par Ferhat et *al.* 2017, concernant une plante de la famille des lamiaceae : *Stachys guyoniana* montre que dans le test DPPH, l'extrait chloroformique de *Stachys guyoniana*, a présenté une faible activité antioxydante ($IC_{50} : 35,76 \pm 1,06 \mu\text{g} / \text{ml}$).

L'activité antioxydante de notre extrait éthanolique et chloroformique est supérieure à celle obtenue par Amarti et *al.* 2011. Pour leurs études concernant les quatre huiles essentielles de *Thym* du Maroc (*Thymus capitatus*, *T. ciliatus*, *T. bleicherianus* et *T. algeriensis*), avec des IC_{50} égale à 69,04 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 74,025 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 77,24 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 745 $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectivement. Une valeur de $IC_{50} : 198,86 \mu\text{g} / \text{ml}$ a été trouvé par Ertas et *al.* 2015 pour le *Thymus nummulartus*.

Nous notons qu'il n'y a pas une corrélation entre la teneur des polyphénols et l'activité antioxydante, puisque l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique avec une teneur en polyphénols ($386,5 \pm 1,64 \mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$) est plus élevée que celle de l'extrait chloroformique avec une teneur en polyphénols ($453,5 \pm 15,32 \mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$).

Les résultats de ce test ne permettent pas de faire un rapprochement avec les taux de polyphénols des extraits. Effectivement, l'extrait éthanolique est plus riche en polyphénols ($386,5 \pm 1,64 \mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$) que l'extrait chloroformique ($453,5 \pm 15,32 \mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$).

Ceci permet de dire que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des molécules antioxydantes présentes dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé de groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante (Fadili et *al.* 2017).

3.2. Activité du Piégeage de l'ABTS

La méthode d'ABTS est basée sur la capacité d'une molécule à piéger le radical $ABTS^{\bullet+}$ de couleur bleu pour le convertir à la forme non radicalaire sans couleur (Figure 23) (Besbes Hlila et al. 2017).

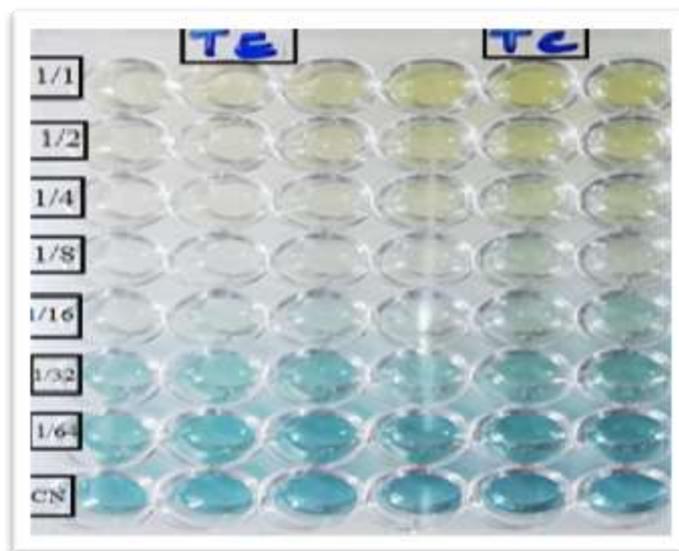


Figure 23 : Microplaques de dosage de l'ABTS.

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe du pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{\bullet+}$ en fonction des concentrations de l'extrait (Figure 24,25).

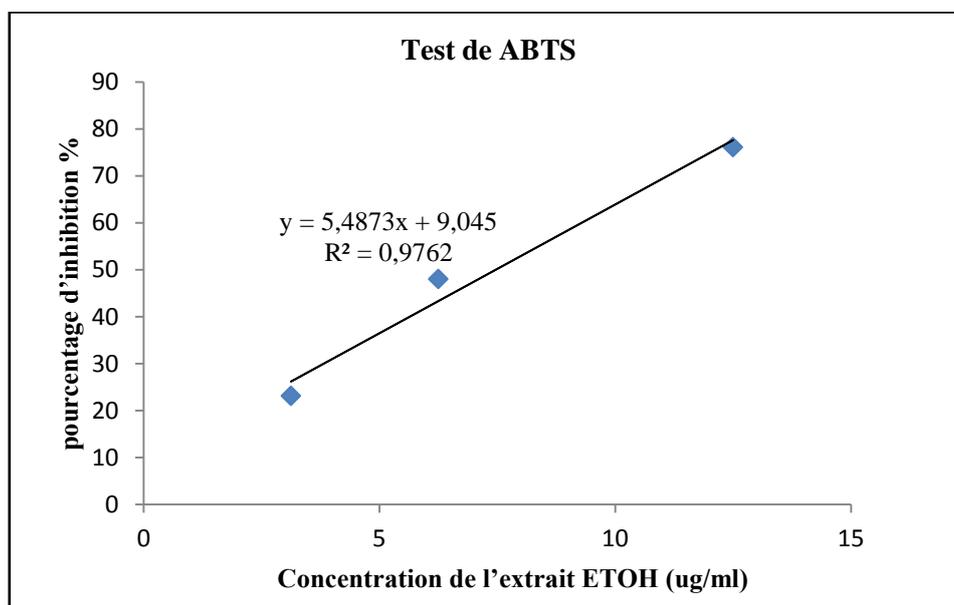


Figure 24 : Test ABTS pour l'extrait éthanolique.

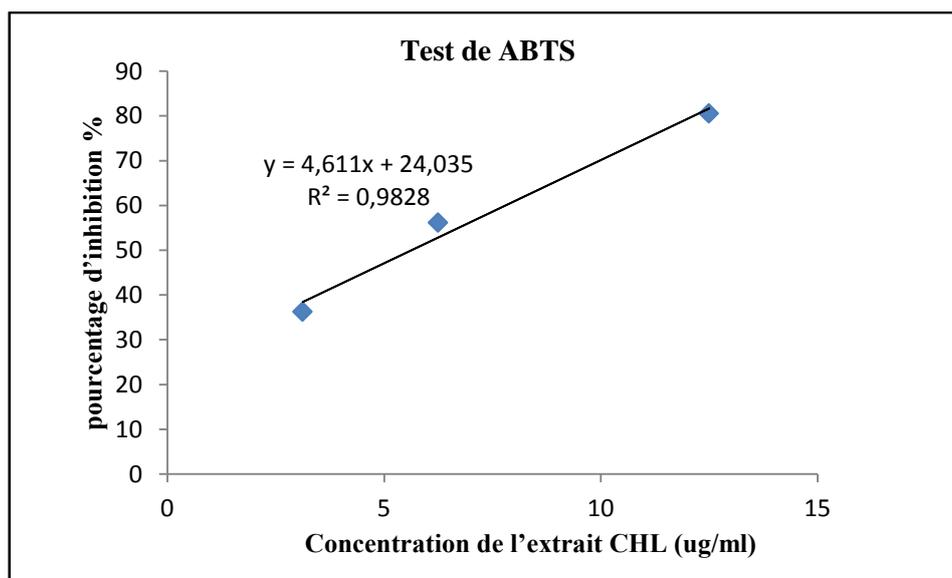


Figure 25 : Test ABTS pour l'extrait chloroformique.

Les valeurs des IC_{50} du test ABTS⁺ Sont illustrées dans le Tableau 15 et la Figure 26.

Tableau 15 : Valeurs des concentrations d'inhibitions IC_{50} Des 2 extraits testés.

	Extrait éthanologique	Extrait chloroformique	BHA
IC_{50} (µg/ml)	7.46	5.63	1.81±0.10

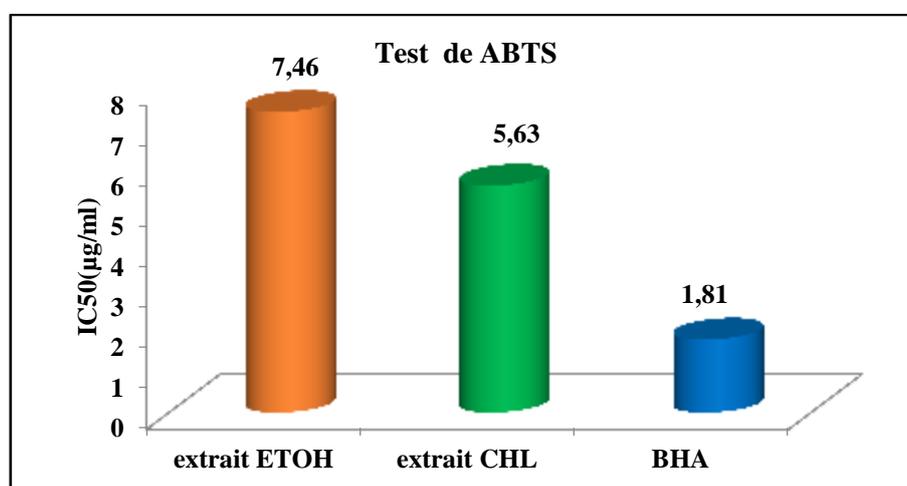


Figure 26: Comparaison des IC_{50} du test ABTS.

Ces résultats indiquent que les extraits ont un très bon potentiel du radical ABTS⁺, leur IC_{50} ont des valeur basses ($IC_{50}=7.46\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait éthanologique et $IC_{50}= 5.63\mu\text{g/ml}$).

Cependant, cette capacité est légèrement inférieure à celle du standard (BHA).

Il est possible de dire également que l'extrait chloroformique possède une activité inhibitrice du cation ABTS⁺ Plus grande que celle de l'extrait éthanologique.

Comparativement aux résultats de la présente étude, les travaux menés par Köksal et ses collaborateurs 2017 sur l'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris* ont démontré une faible activité antiradicalaire de L'ABTS⁺ (54.08 µg/ml).

Pour ce test également nous n'avons pas trouvé des travaux similaires concernant l'extrait chloroformique.

Cependant, des études faites par Ferhat et al. 2017, concernant la famille des lamiaceae plus exactement les deux espèces : *Mentha aquatica* et *Stachys guyoniana* montrent que dans le test ABTS, l'extrait chloroformique *Mentha aquatica* et l'extrait Chloroformique de *Stachys guyoniana* ont présentés une bonne activité antioxydante (IC₅₀ : 5,38 ± 0,14 µg/ml et IC₅₀ = 7,29 ± 0,23 µg/ml) respectivement.

De leurs côté, Bendif et son équipe 2017, en étudiant les huiles essentielles de *Thymus munbyanus* ont signalé des IC₅₀ de l'ordre de 104 µg/ml.

3.3. Activité antioxydants (CUPRAC)

La méthode CUPRAC est basée sur la réduction de Cu⁺² en Cu⁺¹ par des réducteurs (antioxydants) présents dans l'extrait (Nemati et al. 2017).

La couleur jaune-orange est due au composé Cu(I)-Nc formé. Les essais sont répétés trois fois (Figure 27) (Boucekrit 2018).

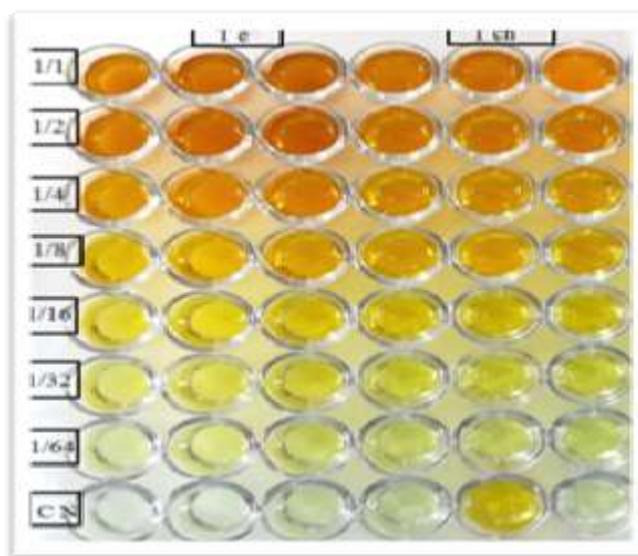


Figure 27: Microplaquette de dosage de CUPRAC.

Résultats et discussion

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe d'absorbance du radical CUPRAC en fonction de la concentration de l'extrait (Figure 28,29).

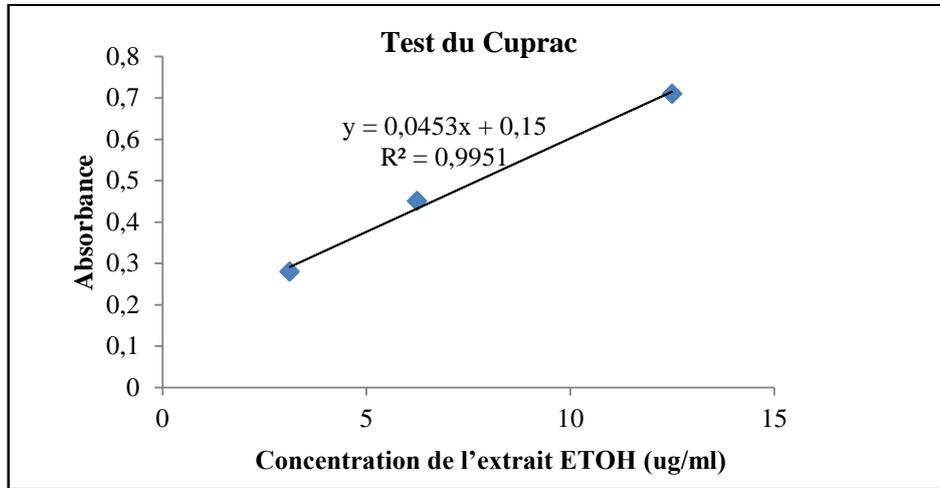


Figure 28: Test CUPRAC pour l'extrait éthanolique.

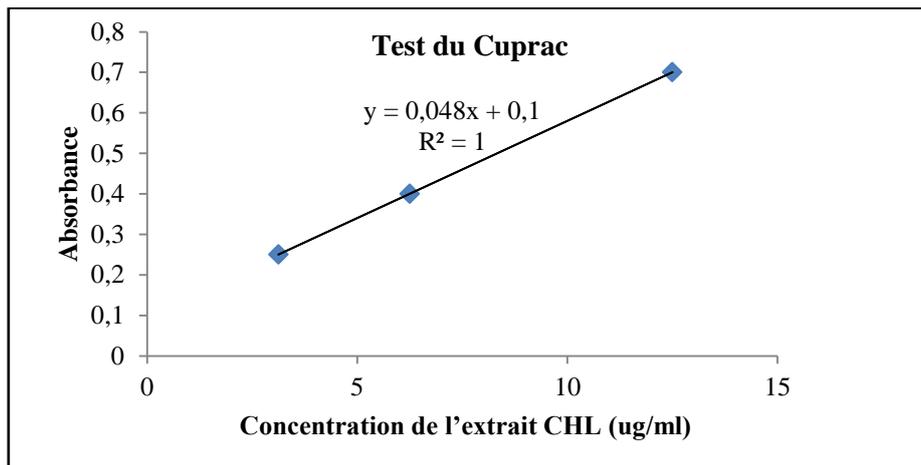


Figure 29: Test CUPRAC pour l'extrait chloroformique.

Les résultats sont enregistrés comme absorbance par rapport à l'absorbance de BHA et BHT qui sont utilisés comme antioxydants normes.

Résultats et discussion

Tableau 16: Valeurs de l'absorbance de l'extrait éthanolique, chloroformique, BHT et BHA.

Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)							
Concentration	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg
Absorbance de l'extrait éthanolique	0,28±0,02	0,45±0,02	0,71±0,02	1,22±0,03	2,04±0,01	3,17±0,29	3,77±0,16
Absorbance de l'extrait chloroformique	0,25±0,00	0,40±0,01	0,70±0,01	1,20±0,09	1,46±0,03	2,24±0,13	3,38±0,37
Absorbance de BHT	0.19±0.01	0.33±0.04	0.66±0.07	1.03±0.07	1.48±0.09	2.04±0.14	2.32±0.28
Absorbance de BHA	0.46±0.00	0.78±0.01	1.34±0.08	2.36±0.17	3.45±0.02	3.76±0.03	3.93±0.01

D'après ces résultats, on remarque que l'absorbance augmente avec l'augmentation de la concentration. Les valeurs d'absorbance des extraits éthanolique et chloroformique est très proche de BHT.

D'après les représentations précédentes, on remarque que les deux extraits éthanolique et chloroformique ont manifestés une bonne activité inhibitrice du CUPRAC.

A partir de ces résultats on peut dire que l'extrait chloroformique, éthanolique montrent un pouvoir réducteur de cuivre plus important que celui de standard (BHT).

Avec la méthode CUPRAC, L'extrait éthanolique présente l'activité la plus forte que l'extrait chloroformique.

Il n'y a pas des études qui expliquent le pouvoir réducteur CUPRAC des extraits éthanolique et chloroformique de genre *Thymus*.

Cependant, des études faites par Ferhat et *al.* 2017, concernant la famille des lamiaceae *Stachys guyoniana* montre que dans le test CUPRAC, l'extrait chloroformique de *Stachys guyoniana*, a présenté une activité antioxydante importante.

✚ On peut conclure que l'extrait éthanolique et chloroformique constitue un excellent antioxydant Naturel.

4. Activité anticholinestérase

L'apparition de la couleur jaune indique que ces extraits ne possèdent aucune activités anticholinestérase (Figure 30).

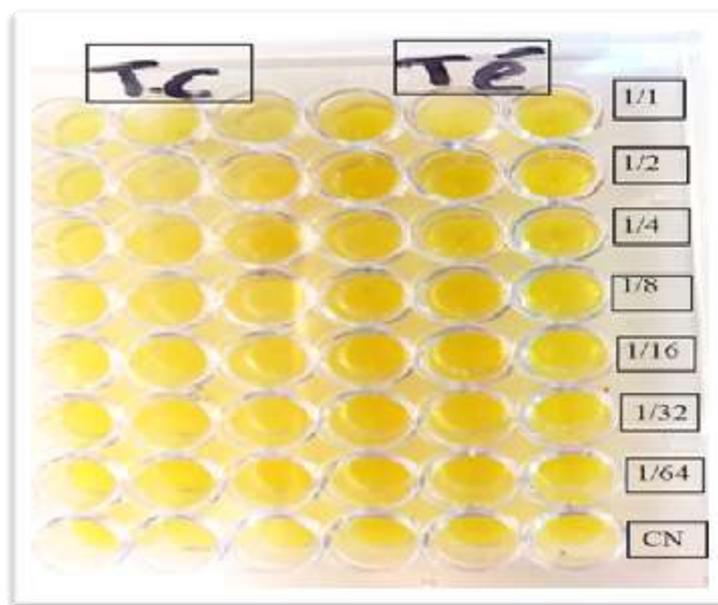


Figure 30 : Microplaque de dosage de l'Activités anticholinestérase.

Tableau 17 : Pourcentage d'inhibition de l'AChE.

Le pourcentage d'inhibition de l'AChE							
Concentration	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg
Ethanolique	-46.30	-27.62	-37.77	-47.33	-55.86	-64.01	-43.37
Chloroformique	-34.32	-17.93	-20.32	-0.90	13.39	51.00	59.47

D'après le Tableau 17, le pourcentage d'inhibition de l'AChE est négatif avec l'augmentation de la concentration de l'extrait éthanolique et chloroformique mais ce dernier a des concentrations de 50 µg à 200 µg semble avoir une très légère activité.

Des tests d'activité anticholinestérase, effectués sur les extraits : éthanolique, chloroformique de genre *Thymus* ont montré que ces extraits ne possèdent aucune capacité d'inhibition de l'AChE.

L'étude faite par Kindl et al. 2015 a montré que les extraits éthanoliques de *Thymus* (*T. longicaulis*, *T. pulegioides* et *T. vulgaris*), ont une activité inhibitrice la plus puissante contre AChE avec des valeurs IC₅₀ : 656,06 - 667,91 µg / ml.

De leurs côté, Ertas et son équipe 2015, a montré que les huiles essentielles de *T. Nummulartus* ont une bonne activité contre enzyme l'acétylcholinestérase.

Notre résultat est similaire aux résultats trouvés par Ferhat et *al.* 2017, concernant la famille des lamiaceae plus exactement les deux espèces : *Mentha aquatica* et *Stachys guyoniana* montrent aucune capacité d'inhibition de l'AChE.

5. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des 2 extraits chloroformique et éthanolique de genre *Thymus* est évaluée sur 6 souches: (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*) après 24 heures d'incubation à une température de 37°C.

Le pouvoir microbienne de ces extraits est obtenu par la mesure du diamètre des zones d'inhibition en mm.

Nous avons observé une activité antimicrobienne variable vis-à-vis de toutes les souches testées. Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau 18.

Le Tableau 18 illustre les valeurs des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes apparues en présence des 2 extraits.

Tableau 18 : Diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'extrait éthanolique et chloroformique du genre *Thymus*.

Souches Microbiennes	Dilutions avec concentrations mg/ml		Diamètre des zones d'inhibition de croissance des cultures microbiennes en mm								Effet
	Extrait éthanolique				Extrait chloroformique						
	20	10	5	2.5	20	10	5	2.5			
<i>Escherichia coli</i> 337	/	/	/	/	/	/	/	/	/	Pas d'inhibition	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	/	/	/	/	/	/	/	/	/	Pas d'inhibition	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC653bp	/	/	/	/	25	20	15	10		Effet bactéricide	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 704085553	/	/	/	/	/	/	/	/	/	Pas d'inhibition	
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	/	/	/	/	/	/	/	/	/	Pas d'inhibition	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC9763	/	/	/	/	/	/	/	/	/	Effet bactériostatique	

Il est observé que les différentes souches microbiennes étudiées réagissent différemment aux extraits testés. L'extrait chloroformique du genre *Thymus* présente un effet positif seulement sur *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition de 25 mm, 20 et 15 mm et 10 mm respectivement. La zone d'inhibition augmente largement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait chloroformique.

Par contre l'extrait éthanolique représente un effet négatif sur les souches *B.subtilis*, *K.pneumoniae*, *C.albicans*, *E.coli*.

Tableau 19 : Diamètre des zones d'inhibition *Staphylococcus aureus* pour différentes dilutions.

Dilution mg/ml	20	10	5	2.5
Zone d'inhibition (mm)	25	20	15	10

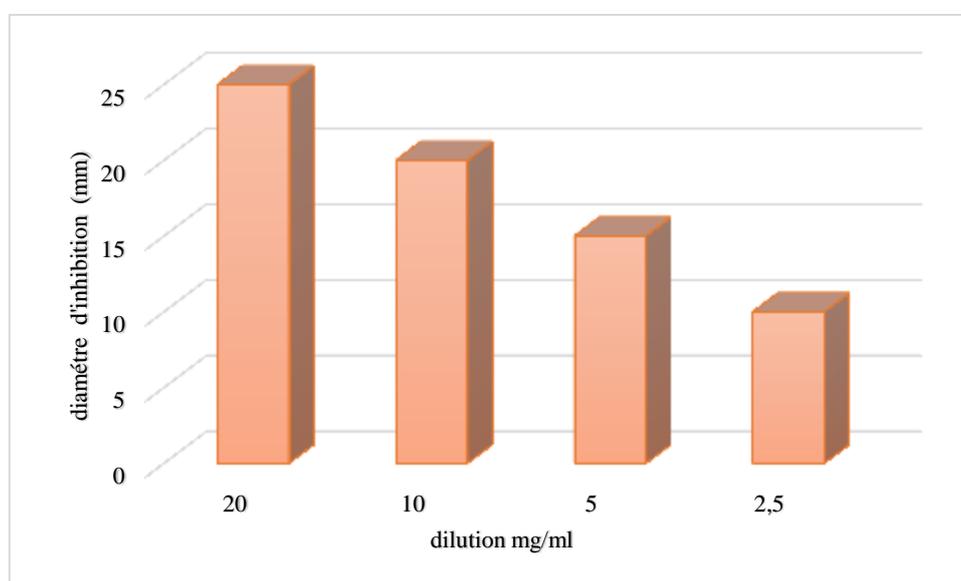


Figure 31: Diamètre des zones d'inhibition de la souche *Staphylococcus aureus* pour différentes dilutions.

Selon Ponce et al. 2003 et Moreira et al. 2005, le DZI renseigne sur la sensibilité d'une bactérie donnée :

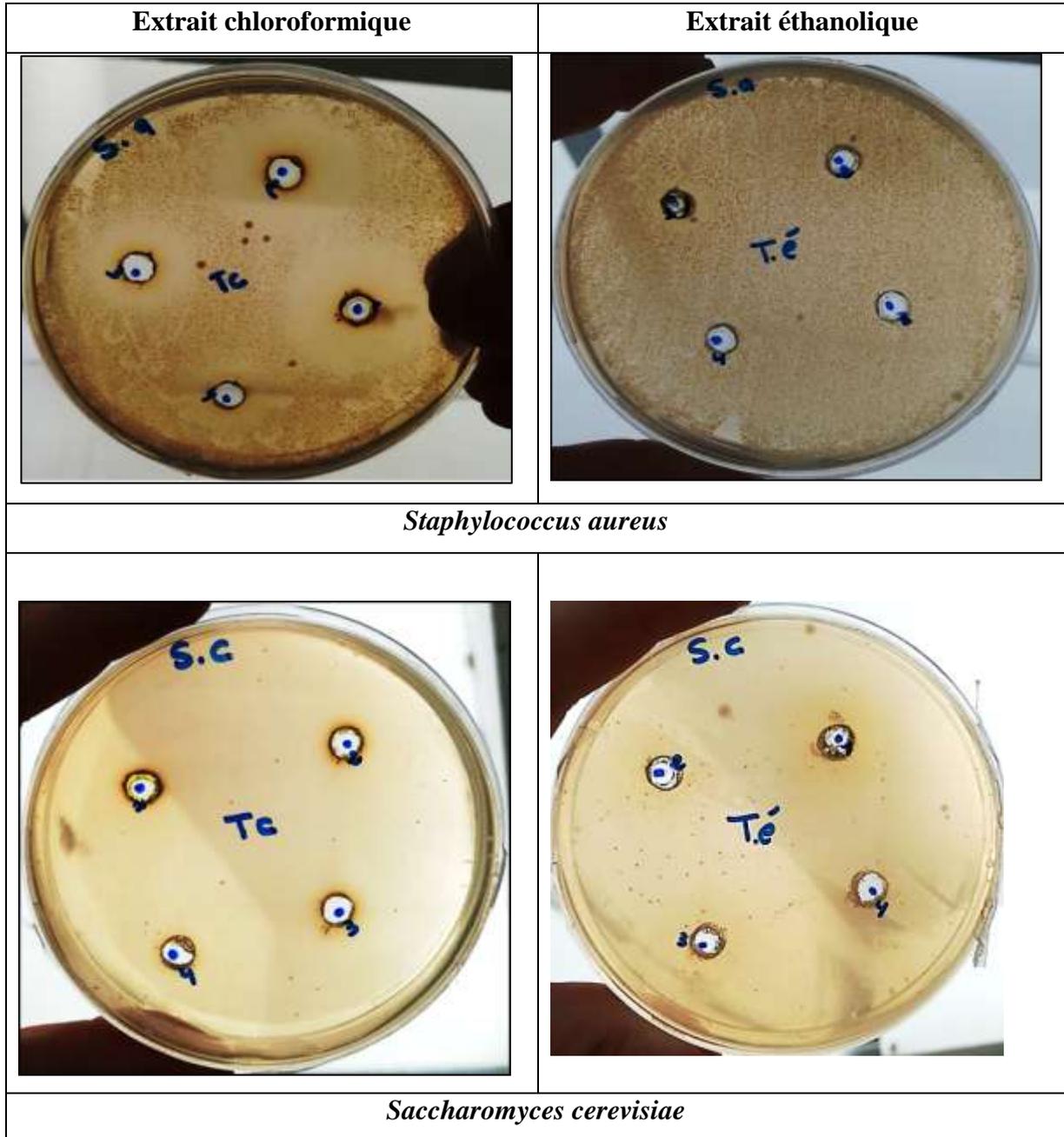
- Non sensible (-): DZI < 8 mm.
- Sensible (+): DZI = 9-14mm.
- Très sensible (++) : DZI = 15-19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : DZI >20mm.

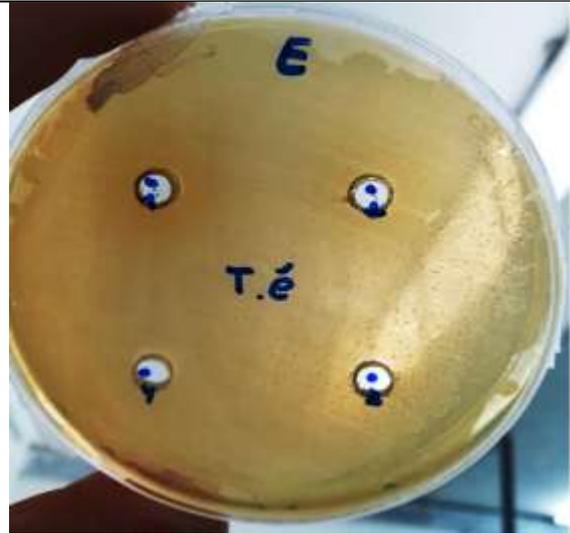
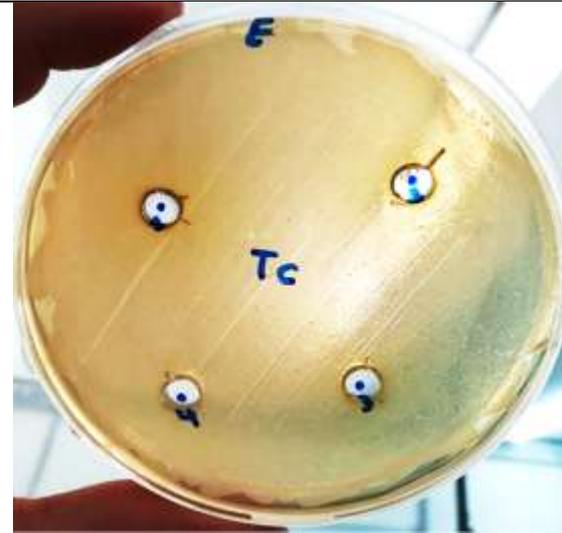
A partir de ces résultats, il semble que la souche *Staphylococcus aureus* extrêmement sensible pour l'extrait chloroformique vis-à-vis toutes les dilutions de l'extrait.

L'extrait chloroformique provoquera un effet bactéricide (activité létale) vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus*.

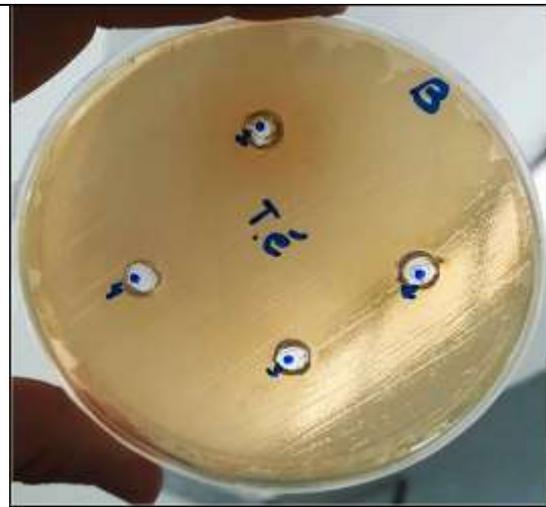
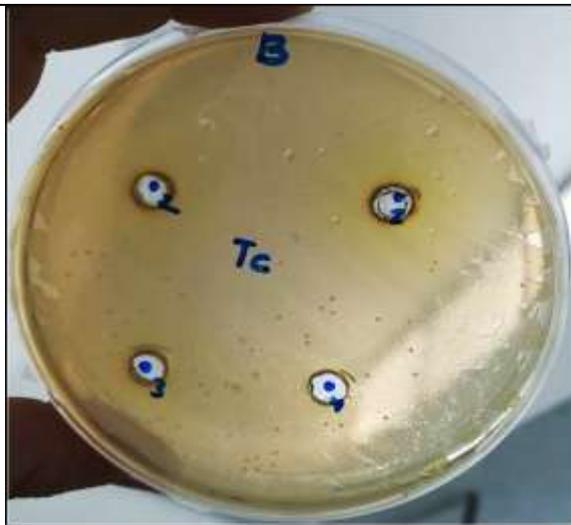
Résultats et discussion

Par ailleurs, les 2 extraits chloroformique et éthanolique provoquent un effet bactériostatique (inhibition de la croissance) sur la souche fongique *S.cerevisiae*, dont on observe une diminution du nombre.

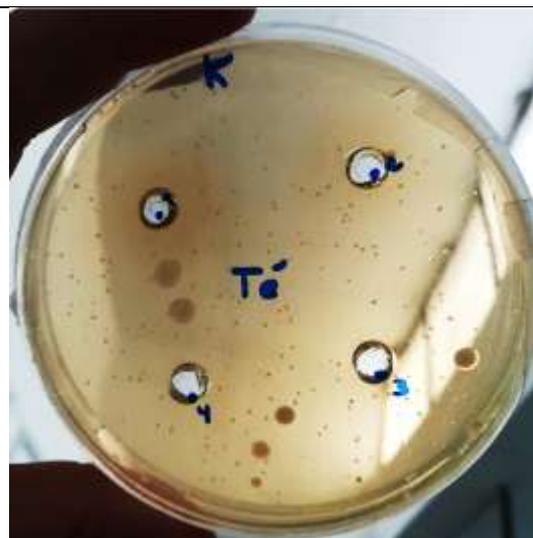




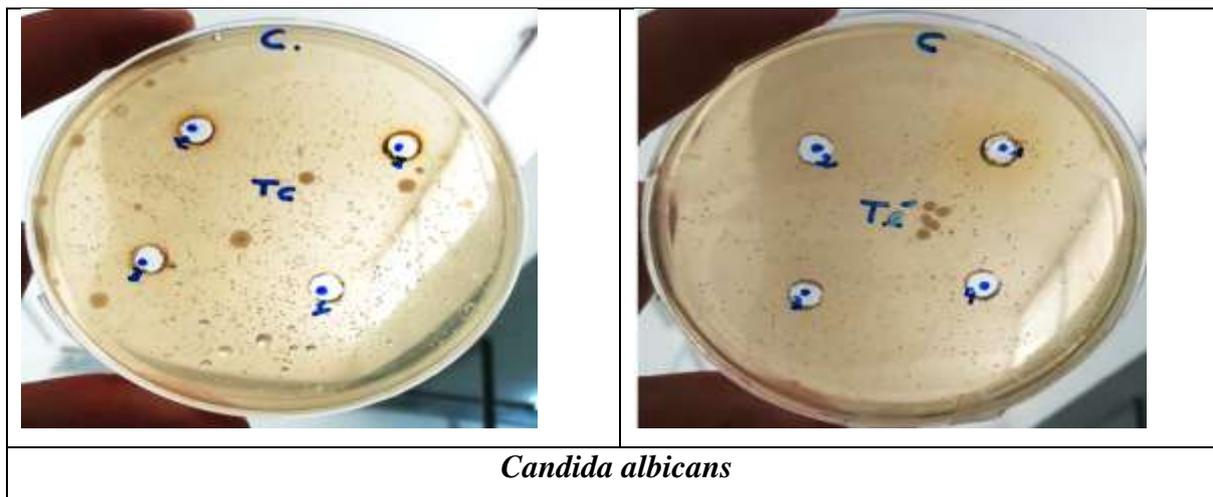
Escherichia coli



Bacillus subtilis



Klebsiella pneumoniae



Des travaux similaires sur le genre *Thymus*, Hammoudi 2015, révèle que l'extrait chloroformique exerce un effet antibactérien considérable sur *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 avec une zone d'inhibition de 19 mm.

En ce qui concerne l'extrait éthanolique, il est plus actif sur *Escherichia coli* ATCC 25922 (18 mm) par rapport aux autres souches.

Alzoreky et Nakahara 2002, au cours d'une étude antibactérienne de 26 espèces de plantes médicinales, ont trouvé que la souche bactérienne la plus sensible est l'*Escherichia coli* par rapport aux extraits de *Thymus serpyllum*.

El Ajjouri et al. 2008, les huiles essentielles (thymol, et le carvacrol) extraits de *Thymus capitatus* et *Thymus bleicherians* sont pourvus d'action antifongique vis -à-vis les champignons.

Jayari et al. 2017, Il a été démontré que les huiles essentielles *T. capitatus* était capable d'inhiber la croissance de *E. coli* et *S. aureus*.

Hammoudi 2015, les résultats obtenus indiquent que *Staphylococcus aureus* ATCC 27 923 a été le micro-organisme le plus sensible avec les huiles essentielles de *Salvia chudaei* Batt. & Trab. Une zone d'inhibition de 26 mm a été mesurée pour ce germe, suivie par *Escherichia coli* ATCC 25922 avec une zone d'inhibition de 19mm et une faible zone d'inhibition est observée (15 mm) contre *Candida albicans*.

Kahdir et al. 2013, les souches à gram positif présentent souvent, plus de sensibilité vis-à-vis des huiles essentielles que les souches à gram négatif.

L'activité antimicrobienne dépend à la fois de la présence des composés phénoliques, et aussi de la présence de divers métabolites secondaires, de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles (Falleh et al. 2008).

✚ La plupart des recherches se fait sur les huiles essentielles que les extraits des plantes.



Conclusion

Conclusion

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité biologique des extraits éthanolique et chloroformique d'une plante Algérienne appartenant au genre *Thymus* (Lamiaceae).

Des tests biologiques d'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne ont été réalisés ainsi que l'estimation quantitative des métabolites secondaires (polyphénols et flavonoïdes).

Dans la littérature peu de travaux ont étudiés l'activité des extraits de plantes, cela donne à notre travail de la nouveauté et de l'originalité.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a montré une teneur élevée en ces métabolites dans les deux extraits étudiés. L'extrait chloroformique étant plus riche que l'extrait éthanolique.

De l'activité antioxydante *in vitro* étudiée par trois méthodes de réduction, le test du DPPH, de l'ABTS et du CUPRAC, il ressort que les deux extraits étudiés ont un potentiel antioxydant élevé et qu'il est proportionnel à l'augmentation de la concentration des extraits.

La méthode antiradicalaire de l'ABTS suggère que l'extrait chloroformique est plus performant que l'extrait éthanolique.

Avec le test du CUPRAC, il est remarqué que les deux extraits éthanolique et chloroformique ont manifestés une forte activité inhibitrice.

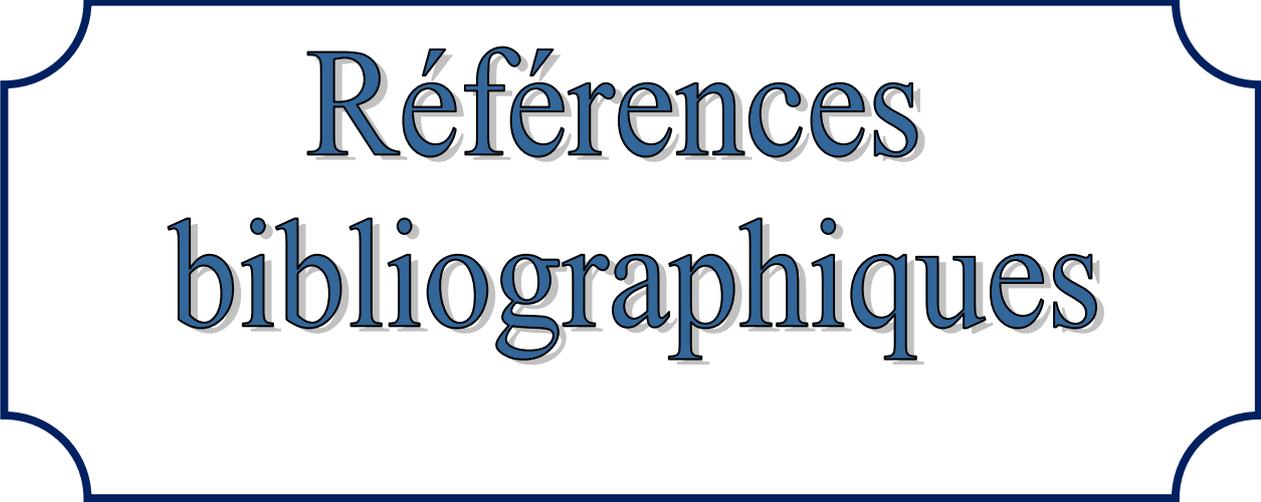
L'activité antimicrobienne des deux extraits testés sur 4 souches bactériennes et 2 souches fongiques n'a pas donné de zone d'inhibition franche exceptée avec *Staphylococcus aureus* sous l'effet de l'extrait chloroformique.

Le test de l'activité anticholinestérase, réalisé sur les 2 extraits a montré que ces derniers ne possèdent aucune capacité d'inhibition de l'AChE.

En perspectives plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés :

- Déterminer les molécules responsables des activités biologiques, et d'approfondir l'étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes.
- De développer le spectre des activités biologiques ciblées, en incluant les activités anti-inflammatoires, insecticides ou autres.

Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence.



Références
bibliographiques

Références bibliographiques

« A »

- **Adossides A. (2003).** La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole. P. 70.
- **Ahmad M.S., Nasshorudin D., Mamat A.S. (2014).** Novel closed system extraction of essential oil: impact on yield and physical characterization. In 4th International Conference on Biotechnology and Environment Management. 75 (7): 42-46.
- **Akroum S. (2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de doctorat. Université Mentouri Constantine.
- **Alaoui-Jamali C., Kasrati A., Leach D., Abbad A. (2016).** Etude comparative de l'activité insecticide des huiles essentielles des espèces de *Thyms* originaires du sud-ouest marocain. Phytothérapie. 1-7.
- **Aljabeili H.S., Barakat H., Abdel-Rahman H.A. (2018).** Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of *Thyme* essential oil (*Thymus vulgaris*). Food and Nutrition Sciences. 9 (05): 433-446.
- **Alzoreky N.S., Nakahara K. (2003).** Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International Journal of Food Microbiology. 80 (3): 223-230.
- **Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Aarab L., Aarab L., El Ajjouri M., Guedira A. (2011).** Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de *Thym* du Maroc. Acta Botanica Gallica. 158 (4): 513-523.
- **Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E. (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: cuprac method. Journal of Agricultural and Food chemistry. 52: 7970–7981.
- **Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Khebri S. (2010).** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum l.* Lebanese Science Journal. 11 (1): 69-81.
- **Attou A. (2011).** Contribution à l'étude photochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.

- **Azzouzi S. (2016).** Etude phytochimique et biologique de *Bituminaria bituminosa* (L.) C.H .Stirton (fabaceae) et *Centaurea dimorphaviv.* (asteraceae). Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri. Constantine.

« B »

- **Barati S., Baigi G., Beigi S., Deghani M. (2013).** The effects of *Thymus daenensis* extract on maintenance and growth of yogurt starter bacteria. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 4 (2): 468-471.
- **Beaudeau J.L., Durand G. (2011).** Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. Lavoisier (ed.). Paris. P. 127- 128.
- **Benayache F. (2013).** Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus poiret.* Mémoire de magister. Université Constantine.
- **Bendif H. (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques lamiaceae: *Ajugaiva(l.) schreb., Teucrium poliuml., Thymus munbyanus subsp. coloratus (boiss. & reut.) greuter & burdet et Rosmarinus eriocalyx jord & fourr.* Thèse de doctorat. L'école Normale Supérieure de Kouba. Alger.
- **Bendif H., Boudjeniba M., Djamel Miara M., Biqiku L., Bramucci M., Caprioli G., Lupidi G., Quassinti L., Sagratini G., Vitali L.A., Vittori S., Maggi F. (2017).** *Rosmarinus eriocalyx*: an alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds. Food Chemistry. 218: 78–88.
- **Besbes Hlila M., Ben Saad A., ben jannet H., Aouni M., Mastouri M., Selmi B. (2017).** Etude chimique et biologique des extraits de la plante halophyte *Halocnemeum strobilaceum* (pall) bieb. Journal of Bioresources Valorization (JBV). 2 (1): 42-48.
- **Blois M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 4617 (181): 1119-1200.
- **Bonnafeous C. (2013).** Traité scientifique aromathérapie : aromatologie & aromachologie. Dangles (ed.). Escalquens. P. 59.
- **Botineau M. (2010).** Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs. Tec & Doc Lavoisier (ed.). Paris. P. 1021.
- **Bouhekrit M. (2018).** Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux apiaceae *Elaeoselinum asclepium(l.) bertol et Margotia gummifera* (desf.) lange. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas. Sétif.

- **Bouchouka E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar .Annaba.
- **Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., Abrini J. (2006).** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès International de Biochimie. 324-327.
- **Bourgou S., Serairi Beji R., Medini F., Ksouri R. (2016).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology. 28 (12): 1649-1655.
- **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Lavoisier (ed.). Paris. P. 241, 310.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier (ed.). Paris. P. 1243.

« C »

- **Charles D. J. (2013).** Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springer Science & Business Media. New York. P. 553.
- **Cole G.M., Lim G.P., Yang F., Teter B., Begum A., Ma Q., Harris-White M.C., Frautschy A. (2005).** Prevention of alzheimer's disease: omega-3 fatty acid and phenolic antioxidant interventions. Neurobiology of Aging. 26: 133-136.
- **Couplan F. (2000).** Dictionnaire étymologie de botanique. Nestlé (ed.). Luisane. Paris. P. 283.

« D »

- **Dai J., Mumper R.J. (2010).** Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxydant and anticancer propreties. Molecules. 15 (10): 7313-52.
- **Dauqan E.M.A., Abdullah A. (2017).** Medicinal and functional values of *thyme* (*Thymus vulgaris L.*) Herb. Journal of Applied Biology & Biotechnology Vol. 5 (02): 017-022.
- **Defraigne J.O., Pincemail J. (2008).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. Revue Médicale de Liège. 63: 10-19.
- **Dixon R.A., Steele C.L. (1999).** Flavonoids and isoflavonoids - a gold mine for metabolic engineering. Trends in Plant Science. 4(10): 394-400.

- **Dupont F., Guignard J. L. (2004).** Botanique systématique moléculaire. Elsevier Masson (ed.). Paris. P. 234.
- **Dupont F., Guignard J. L. (2012).** Botanique: les familles des plantes. Elsevier Masson (ed.). Paris. P. 300.

« E »

- **El Ajjouri M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F., Aberchane M. (2008).** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus pomel* et *Thymus capitatus (l.) hoffm. & link* contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. 12 (4): 345-351.
- **Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherston R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric dermination of acetylcholinesterases activity. Biochem. Pharmacol. 7: 88-95.
- **El oualilalami A., El-Akhal F., Ouedrhiri W., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., Greche H. (2013).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain: *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis*. Les Technologies de Laboratoire. 8 (31): 27-33.
- **Enneb H., Belkadhi A., Cheour F., Ferchichi A. (2015).** Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia nermis L.*). Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology. 20 (2): 788-793.
- **Ertas A., Boga M., Yilmaz M.A., Yesil Y., Tel G., Temel H., Hasimi N., Ozturk M., Gazioglu I., Ugurlu P. (2015).** A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid. Industrial Crops and Products. 67: 336-345.

« F »

- **Fadili K., Amalich S., N'dedianhoua S.K., Bouachrine M., Mahjoubi M., El Hilali F., Zair T. (2015).** Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus officinalis* et *Thymus satureioides*. International Journal of Innovation and Scientific Research. 17 (1): 24-33.
- **Fadili K., Zerkani H., Amalich S., Zair T. (2017).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du *Capparis spinosa l.* American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. 5 (2): 108-118.

- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies.* 331 (5): 372-379.
- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique.* 108-115.
- **Ferdjioui S. (2014).** Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanolique et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas. Sétif.
- **Ferhat M., Erol E., Beladjila K.A., Çetintaş Y., Duru M.E., Öztürk M., Kabouche A., Kabouche Z. (2017).** Antioxidant, anticholinesterase and antibacterial activities of *Stachys guyoniana* and *Mentha aquatica*. *Pharmaceutical Biology.* 55 (1): 324-329.
- **Floss H.G. (1997).** Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product Reports.* 14: 433-434.
- **Fowler Z.L., Koffas M.A.G. (2009).** Biosynthesis and biotechnological production of flavanones: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 83: 799-808.

« G »

- **Galland M., Boutet-Mercey S., Lounifi I., Godin B., Balzergue S., Grandjean O., Morin H., Perreau F., Debeaujon I., Rajjou L. (2014).** Compartmentation and dynamics of flavones metabolism in dry and germinated rice seeds. *Plant and Cell Physiology.* 55 (9): 1646-1659.
- **Ghasemi Pirbalouti A., EmamiBistghani Z., Malekpoor F. (2015).** An overview on genus *Thymus*. *Journal of Herbal Drugs.* 6 (2): 93-100.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 3 (4): 162-169.
- **Ghelichnia H. (2016).** Essential oil composition of three species of *thymus* growing wild in mazandaran, Iran. *Cercetari Agronomice in Moldova.* 49 (2): 107-113.
- **Ghomari F.N., Kouache B., Arous A., Cherchali S. (2014).** Effet de traitement par fumigation du *Thym* (*Thymus vulgaris*) sur le *Varroa destructor* agent de la varroase des abeilles. *Nature & Technology.* 34-38.

« H »

- **Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1989).** Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press (ed.). Oxford. P. 543.
- **Halliwell B. (1995).** Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol.* 49 (10): 1341–1348.
- **Hamideh J., Hesamzadeh Hejazi S.M., Babayev M.S. (2009).** Karyotypic studies of three *Thymus* (Lamiaceae) species and populations in Iran. *Caryologia.* 62 (4): 316-325.
- **Hammoudi R. (2015).** Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah. Ouargla.
- **Harley R.M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P.H., Conn B., Grayer R., Harley M.M., Kok R., Krestovskaja T., Morales A., Paton A.J., Ryding O., Upson T. (2004).** Labiatae. Flowering Plants Dicotyledons. 167-275.
- **Harrar A.E.N. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L.* Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas. Sétif.
- **Heni S. (2016).** Sélection d'extraits bio-actifs des espèces du genre *Thymus* comme conservateurs antibactériens naturels. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba.
- **Hernández I., Alegre L., Van Breusegem F., Munné-Bosch S. (2009).** How relevant are flavonoids as antioxidants in plants?. *Trends in plant science.* 14 (3): 125-132.
- **Hesham H.A.Rassem., Abdurahman H.Nour., Rosli M.Yunus. (2016).** Techniques for Extraction of Essential oils From Plants: A Review. *Aust. J. Basic & Appl. Sci.* 10 (16): 117-127.
- **Hilan C., Sfeir R., Aitour S. (2011).** Chimiotypes des plantes communes au Liban du genre *Origanum* et du genre *Micromeria* (Lamiaceae). *Lebanese Science Journal.* 12 (1): 79-91.
- **Howes M.J.R., Perry N.S.L., Houghton P.J. (2003).** Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytotherapy Research.* 17: 1-18.
- **Hudson B.J.F. (1990).** Food antioxidants. Elsevier Applied Science (ed.). London. P. 309.

- **Hussenet C. (2017).** Instrumentation, modélisation et automatisation de fermenteurs levuriers à destination œnologique. Thèse de doctorat. Université Paris. Saclayprepaee “Centralesupelec”.

« I »

- **Ismaili R., Houbairi S., Sanâa L., Khadija M., Abdeslam L. (2017).** Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales Marocaines. *European Scientific Journal (ESJ)*. 13 (12): 323-334.
- **Iwashina T. (2000).** The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*. 113 (3): 287-299.

« J »

- **Javed H., Erum S., Tabassum S., Ameen F. (2013).** An overview on medicinal importance of *thymus vulgaris*. *Journal of Asian Scientific Research*. 3 (10): 974-982.
- **Jayari A., El Abed N., Jouini A., Mohammed Saed Abdul-Wahab O., Maaroufi A., Ben Hadj Ahmed S. (2017).** Antibacterial activity of *Thymus capitatus* and *Thymus algeriensis* essential oils against four food-borne pathogens inoculated in minced beef meat. *Journal of Food Safety*. 38 (1): 1-10.
- **Jovanka L., Ivana C., Goran T., Sava P., Slavica S., Tamara C.J., Ljiljana K. (2011).** In vitro antibacterial activity of essential oils from plant family Lamiaceae. *Romanian Biotechnological Letters*. 16 (2): 6034-6041.

« K »

- **Khadir A., Bendahou M., Benbelaid F., Abdoune M.A., Abdelouahid D.E. (2013).** Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus Desf.*, récolté en Algérie. *Phytothérapie*. 11 (6): 353-358.
- **Khan N., Al-Daghri N. M., Al-Ajlan A.S., Alokail M.S. (2014).** The use of natural and derived sources of flavonoids and antioxidants in Saudi Arabia. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*. 1 (2): 100-106.
- **Khantouche L., Abderabba M. (2018).** Dosage des polyphénols et étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits des feuilles du *Globularia alypum L.* *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*. 12 (1): 68-74.
- **Kholkhal F. (2014).** Etude Photochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid.

- **Kindl M., Blažeković B., Bucar F., Vladimir-Knežević S. (2015).** Antioxidant and anticholinesterase potential of six *Thymus* species. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015: 1-10.
- **Köksal E., Bursal E., Gülçin İ., Korkmaz M., Çağlayan C., Gören A. C., Alwaseel S.H. (2017).** Antioxidant activity and polyphenol content of Turkish *Thyme* (*Thymus vulgaris*) monitored by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. International Journal of Food Properties. 20 (3): 514-525.
- **Konan F.K., Guessennd N. K., Oussou K.R., Bahi C., Coulibaly A., Djaman A.J., Dosso M. (2014).** Effet antibactérien de l'extrait aqueux de l'écorce de *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (Combretaceae) sur la croissance in vitro des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE). International Journal of Biological and Chemical Sciences. 8 (3): 1192-1201.
- **Koshihara Y., Neichi T., Murota S., Lao A., Fujimoto Y., Tatsuno T. (1984).** Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis. Biochimica et Biophysica Acta. 792: 92-97.
- **Kuklinski C. (2000).** Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega (ed.). Espagne. P. 528.
- **Kumar S., Pandey A.K. (2013).** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. The Scientific World Journal. 2013: 1-16.

« L »

- **Labiad M.H., Harhar H., Ghanimi A., Tabyaoui M. (2017).** Phytochemical screening and antioxidant activity of Moroccan *Thymus satureioides* extracts. Journal of Materials and Environmental Sciences. 8 (6): 2132-2139.
- **Li Y., Fabiano-Tixier A.S., Chemat F. (2014).** Essential oils as reagents in Green Chemistry. Springer, Cham. Heidelberg (ed.). New York. P. 4.
- **Liu R.H. (2003).** Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. Am. J. Clin. Nutr. 78: 517-520.

« M »

- **Mabberley D.J. (1997).** The plant-book: A portable dictionary of the vascular plants. Cambridge University Press (ed.). P. 858.
- **Macheix J. J. (1996).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?. Acta botanica gallica. 143 (6): 473-479.

- **Mahdavi S., Karimzadeh G. (2010).** Karyological and nuclear DNA content variation in some Iranian endemic *Thymus* species (Lamiaceae). *Journal of Agricultural Science and Technology*. 12: 447-458.
- **Marc F., Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/Sciences*. 20 (4): 458-463.
- **Martin P. (2014).** Les familles des plantes à fleurs d'Europe: botanique systématique et utilitaire. Presses universitaires de Namur (ed.). P. 221.
- **Matés J.M., Pérez-Gómez C., De Castro I.N. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*. 32 (8): 595-603.
- **Mebarki N. (2010).** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Mémoire de magistère. Université –M'hamed Bougera. Boumerdes.
- **Medina-Torres N., Ayora-Talavera T., Espinosa-Andrews H., Sánchez-Contreras A., Pacheco N. (2017).** Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*. 7 (47): 1-19.
- **Merghem R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. Bahaeddine (ed.). Algérie. P. 172.
- **Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari Benhadj Ali K., Saadi A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 8 (4): 1865-1870.
- **Messai L. (2011).** Etude photochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia Herba Alba*). Thèse de doctorat. Université Mentouri. Constantine.
- **Messaili B. (1995).** Botanique, systématique des spermatophytes. OPU (ed.). Alger. P. 91.
- **Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R. (2004).** Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Maloine (ed.). Paris. P. 461.
- **Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R. (2008).** Botanique. Biologie et physiologie végétales. Maloine (ed.). Paris. P. 467.
- **Meziti A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa L.*: étude in vitro et in vivo. Mémoire de magister. Université El-Haj Lakhdar. Batna.

- **Mindiédiba J.B. (2012).** Etude photochimique et activité biologiques des tiges feuillées de *Lantana camara* L. et de *lippia chevalieri* moldenke : deux verbenaceae du Burkina FASO. Thèse de doctora. Université Ouagadougou.
- **Morales R. (1997).** Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagasalia*. 19 (1-2): 249-262.
- **Morales R. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Stahl Biskup E., Saez F. (Eds.), *Thyme: The Genus Thymus*. Taylor & Francis. London. P. 1-43.
- **Moreira M.R., Ponce A.G., Del Valle C.E., Roura S.I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*. 38 (5): 565-570.
- **Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., Böhm V. (2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 43: 992–999.

« N »

- **Nabors M. (2008).** Biologie végétale: structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies. Pearson (ed.). France. P. 152-153.
- **Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadimotamed M., Ghorbani A. (2005).** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2: 63-79.
- **Napoli E.M., Curcuruto G., Ruberto G. (2010).** Screening of the essential oil composition of wild Sicilian *thyme*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 38: 816-822.
- **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.
- **Newman D.J., Cragg G. M. (2007).** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*. 70 (3): 461-477.
- **Nickavar B., Mojab F., Dolat-Abadi R. (2005).** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*. 90: 609-611.
- **Nieto G., Huvaere K., Skibsted L.H. (2011).** Antioxidant activity of *Rosemary* and *Thyme* by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system. *European Food Research and Technology*. 233 (1): 11-18.

« O »

- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2002).** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. WHO/EDM/TRM/2002.1. Genève, Suisse. P. 135.

« P »

- **Pessel F. (2013).** Synthèse éco-compatible de flavonoïdes fonctionnalisés par le glucose comme antioxydants potentiels. Thèse de doctorat. Université Paris.
- **Pistrick K. (2002).** Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical overview of cultivated plants in the family's Umbelliferae and Labiatae, Genetic Resources and Crop Evolution. 49: 211-225.
- **Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C.E., Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaftund –Technologie. 36 (7): 679–684.

« Q »

- **Quezel P., Santa S. (1962-1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS (ed.). Paris. P. 1170.

« R »

- **Rameau J. C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C. (2008).** Flore forestière française, 3 Région méditerranéenne. Institut pour le développement forestier (ed.). P. 975,1069.
- **Raven P.H., Evert R.F., Eichhorn S.E. (2014).** Biologie végétale. De Boeck (ed.). Bruxelles. P. 30 ,33.
- **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio. 26 (9-10): 1231-1237.
- **Riboli E., Norat T. (2003).** Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. Am. J. Clin. Nutr. 78: 559-569.

« S »

- **Saxena M., Saxena J., Pradhan A. (2012).** Flavonoids and phenolicacids as antioxidants in plants and humanhealth. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 16 (2): 130-134.

- **Senatore F. (1996).** Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of *Thyme* (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food. Chem.* 44: 1327-1332.
- **Sidali L., Brada M., Fauconnier M.L., Lognay G. (2014).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. *PhytoChem & BioSub Journal.* 8 (3): 156-161.
- **Sies H. (1993).** Strategies of antioxidant defence. *Eur. J. Biochem.* 215: 213–219.
- **Singleton V.L., Rossi J.A.J. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16: 144-158.
- **Singhal A.K., Naithani V., Bangar O.P. (2012).** Medicinal plants with a potential to treat alzheimer and associated symptoms. *Int. J. Nutr. Pharmacol. Neurol. Dis.* 2: 84-91.
- **Snoussi S.A., Djazouli Z.E., Aroun M.E.F., Sahli Z. (2003).** Les plantes maraichères, industrielles, condimentaires, aromatiques, médicinales et ornementales. Annexes sur La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie MATE-GEF/PNUD : Projet ALG/97/G31.
- **Soto Mendivil E.A., Moreno Rodríguez J.F., Estarrón Espinosa M., García Fajardo J.A., Obledovázquez E.N. (2006).** Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *E-Gnosis.* 4: 1-7.
- **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.
- **Stahl-Biskup E. (2002).** Essential oil chemistry of the genus *Thymus* D a global view. In: *Thyme D the Genus Thymus* (Stahl-Biskup E. and Saez F., eds.). Francis & Taylor, London, pp. 75D124.

« T »

- **Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci.* 6 (4): 1111-1117.
- **Thérond P. (2003).** Le sélénium : un oligo-élément essentiel pour la santé humaine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 38 (4): 250-256.

- **Tongnuanchan P., Benjakul S. (2014).** Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science*. 79 (7): R1231-R1249.
- **Topçu G., Ay M., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., Ulubelen A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*. 103 (3): 816-822.
- **Touafek O. (2010).** Etude phytochimique de plantes médicinales du Nord et du Sud algériens. Thèse de doctorat. Université Mentouri. Constantine.

« V »

- **Vogt T. (2009).** Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*. 3(1): 2-20.
- **Vu T.D. (2008).** Effet de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia Mill* cultivé en conditions hors sol; impact des facteurs biotiques et abiotiques. Thèse de doctorat. Université Lorraine.

« W »

- **Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J. (2011).** High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. *Chromatographic Science Series*. 477-478.
- **Wilson A. (1987).** Flavonoids pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridonpoda*) and other lycaenid butterflies. *J. Chem. Ecol.* 13 (3): 473-493.
- **Winkel-Shirley B. (2001).** Flavonoid biosynthesis a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*. 126: 485-493.

« Y »

- **Yakhlef G. (2010).** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris l. et Laurus nobilis l.* Mémoire de magister. Université El Hadj Lakhdar. Batna.

« Z »

- **Zeghib A. (2013).** Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*. Thèse de doctorat. Université de Constantine.

Résumés

Résumé

Le *Thymus*, est une plante médicinale et aromatique qui appartient à la famille des lamiaceae. Utilisée et reconnue pour ses vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle et pour sa richesse en polyphénols. Dans le cadre de la valorisation de cette plante, deux extraits (éthanolique et chloroformique) ont été testé pour leur activité biologique et leur teneur en polyphénol et flavonoïdes.

L'estimation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux par la méthode colorimétrique a montré que les deux extraits étudiés sont riches en ces composés.

Trois méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant des deux extraits éthanolique et chloroformique ont été réalisés: Le test du piégeage du radical libre DPPH, l'ABTS et CUPRAC. Selon les résultats obtenus, les deux extraits ont montré une forte activité antioxydante.

L'activité antimicrobienne a été déterminée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé sur 6 souches testées (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*). Seule *Staphylococcus aureus* a présenté une sensibilité très important aux différentes concentrations de l'extrait chloroformique.

L'activité anticholinestérase testée a montré que les deux extraits ne possèdent aucune capacité d'inhibition de l'AChE.

Mots clés : *Thymus*, métabolites secondaires, activité antioxydante, activité antimicrobienne, activité anticholinestérase.

Abstract

The *Thymus* is an aromatic medicinal plant belongs to the family lamiaceae. Used and recognized for its therapeutic virtues in traditional medicine and for its richness in polyphénols. As part of the valuation of this plant, two extracts (ethanolic and chloroformic) were tested for their biological activity and their content of polyphenol and flavonoids. The quantitative estimation of polyphenols and total flavonoids by the colorimetric method showed that the two extracts studied are rich in these compounds. Three methods for evaluating the antioxidant activity of the two ethanolic and chloroform extracts were carried out: the DPPH free radical scavenging test, ABTS and CUPRAC. According to the results obtained, the two extracts showed a strong antioxidant activity. Antimicrobial activity was determined according to the method of diffusion in agar medium on 6 strains tested (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*). Only *Staphylococcus aureus* showed a very high sensitivity to the different concentrations of the chloroformic extract. The anticholinesterase activity tested showed that both extracts do not possess any capacity for inhibiting AChE.

Key words: *Thymus*, secondary metabolites, antioxidant activity, antimicrobial activity, anticholinesterase activity.

ملخص

الزعرتر هو نبات طبي عطري ينتمي إلى العائلة الشفوية مستخدم في الطب التقليدي، معترف به لخصائصه العلاجية. في إطار تقييم هذا النبات، المستخلصين (الايثانولي والكلوروفورمي) اللذين تم اختبارهما لنشاطهما البيولوجي و احتوائهما على للبوليفينول والفلافونويد.

وأظهر التقدير الكمي للبوليفينول والفلافونويد الكلي بواسطة طريقة اللونية أن كل من المستخلصات المدروسة غنية بهذه المركبات.

استخدمت ثلاثة طرق لتقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصين الايثانولي والكلوروفورمي و هي:

اختبار كسح الجذور الحرة DPPH ، ABTS و CUPRAC .

من خلال النتائج الملحوظة، أظهر المستخلصين نشاط مضاد للأكسدة قوي.

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار في وسط جيلوزي على 6 سلالات تم اختبارها

(البكتيريا القولونية، العصوية الرقيقة، المكورات العنقودية الذهبية، كلبسيلة رئوية، مبيضة بيضاء ، فطريات

الخميرة)، إلا سلالة المكورات العنقودية الذهبية اظهرت حساسية مهمة جدا مع مختلف تراكيز المستخلص

الكلوروفورمي.

أظهر نشاط مضادات الكولينستريز، الذي أجري على المستخلصين أنهما لا يمتلكان أي قدرة على تثبيط الاستيل

كولينستريز.

الكلمات المفتاحية: الزعرتر، الايضات الثانوية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضادات

الكولينستريز.

**KHELIFI Zahia
MEDJANI Fouzia**

Date de soutenance : 02/07/2018

Evaluation des activités biologiques des extraits d'une plante Algérienne appartenant au genre *Thymus*.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

Le *Thymus*, est une plante médicinale et aromatique qui appartient à la famille des lamiaceae. Utilisée et reconnue pour ses vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle et pour sa richesse en polyphénols. Dans le cadre de la valorisation de cette plante, deux extraits (éthanolique et chloroformique) ont été testés pour leur activité biologique et leur teneur en polyphénol et flavonoïde.

L'estimation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux par la méthode colorimétrique a montré que les deux extraits étudiés sont riches en ces composés.

Trois méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits éthanolique et chloroformique ont été réalisées : Le test du piégeage du radical libre DPPH, l'ABTS et CUPRAC. Selon les résultats obtenus, les deux extraits ont montré une forte activité antioxydante.

L'activité antimicrobienne a été déterminée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé sur 6 souches testées (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*). Seule *Staphylococcus aureus* a présenté une sensibilité très importante aux différentes concentrations de l'extrait chloroformique.

L'activité anticholinestérase testée a montré que les deux extraits ne possèdent aucune capacité d'inhibition de l'AChE.

Mots clés : *Thymus*, métabolites secondaires, activité antioxydante, activité antimicrobienne, activité anticholinestérase.

Laboratoire de recherche :

laboratoire de biochimie au sein du centre de recherche en biotechnologie (CRBT) – Constantine.

Laboratoire de microbiologie université des frères Mentouri Constantine.

Jury d'évaluation :

Président du jury : KAHALI L. (MAA-UFM Constantine 1).

Rapporteur : SEMRA I. (MAA-UFM Constantine 1).

Examinatrice : Dr. MAAMERI Z. (MCA-UFM Constantine 1).

Année universitaire : 2017/2018