

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun - Tiaret –

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

*Mémoire de fin d'études*

*En vue de l'obtention du diplôme de Master académique*

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Toxicologie et Sécurité Alimentaire**

**Présenté par :**

*M<sup>lle</sup>* KHAZEN Hanane

*M<sup>lle</sup>* OUALI Chaima

*M<sup>lle</sup>* REBIHI Fatima Habiba

**Thème :**

***L'évaluation de l'activité antioxydante des Extraits polyphénolique  
issus de deux plantes médicinales de la région de Tiaret***

**Soutenu le : 14 . 07. 2021**

**Devant le Jury :**

**« Le Grade»**

**Président :** Mr ABBES. MCA Faculté des SNV

**Promotrice :** M<sup>me</sup> BENARABA.R. Pr Faculté des SNV

**Co-Promotrice :** M<sup>me</sup> BOUDALIS. MAA Faculté des SNV

**Examinatrice :** M<sup>me</sup> CHAFAA. M MCA Faculté des SNV

**Année universitaire : 2020-2021**

## *Remerciements*

*Merci avant tout au bon dieu **ALLAH**, le clément, le miséricordieux, le plus puissant qui nous a aidé pour finir notre étude et réaliser ce mémoire. Merci dieu une infinité de fois. C'est un petit mot simple mais qui pèse lourd.*

*Ce mémoire n'aurait jamais été entrepris ni achevé sans la patiente assistance, les savants conseils et orientations, les méticuleux contrôles et suivis, que nous a prodigué notre promotrice, **M<sup>me</sup> BENARABA R**, qui a accepté de nous encadrer. Nous lui témoignons ici, de notre gratitude et reconnaissance, et qui a nous accueillie au sein de leur Laboratoire et qui a mis à nos disposition les conditions matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail tout au long la période de recherche, ainsi **M<sup>me</sup> BOUDALI** la Co-promotrice de ce travail.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mr. ABBES** pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.*

*Aussi, nous tenons à remercier profondément **M<sup>me</sup> CHAFAA** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **M<sup>me</sup> FATIHA ABDEALLAH** et **M<sup>lle</sup> NOURA** pour leurs conseils et encouragements.*

*Nos immenses remerciements vont à tous nos amis de la promotion **Master II Toxicologie et Sécurité Alimentaire**.*

*Nous remercions aussi les travailleurs de la bibliothèque **SNV** et surtout **Mr. ABD EL AZIZ**, et tous ceux et toutes celles qui nous ont aidé ou encouragé, à quelque titre ou degré que ce soit, à entreprendre et achever ce mémoire, qui est notre modeste contribution au domaine de la Recherche Scientifique.*

***KHAZEN Hanane***

***OUALI Chaïma***

***REBIHI Fatima Habiba***

## *Dédicaces*

*A mes parents..*

*Pour vos mains qui ont tant travaillées..*

*Pour votre cœur qui m'a tant donné..*

*Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé..*

*Pour vos yeux qui furent parfois mouillés..*

*Pour vous qui m'avez tant aimé..*

*A ma grande mère pour sa affectueux moral..*

*A mes très chères sœurs Yakout, Nawal, Fatima pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.*

*Pour mon petit frère Issam, pour toute l'ambiance dont tu m'a entourée..*

*A tous mes amies et surtout Najete et plus particulièrement mes collègue de ce travail Chaïma et Fatima..*

*A toute promotion M2 Toxicologie et Sécurité Alimentaire..*

*A tous mes enseignants pour m'avoir tout donnée, ce qui inestimable le savoir et le savoir faire..*

*A toutes celles et à tout ceux qui m'aiment..*



*KHAZEN Hanane*

*Dédicaces..*

Je remercie **Allah** 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 ABED et ma mère KARIMA**, 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.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mes grandes admirations mes considérations et mes sincères affections pour vous

**Ames chères sœurs Soumia, Wissal, Isseraa** qui m'a toujours encouragé pour que je réussisse.

A mon adorable frère *Abdelkader Monire*

A mes chères cousines **Malika, Amina, Marwa, Fatiha, Douaa, Hadil**

A ma chère amie **Asma** pour votre fidèle amitié,

**A mes binômes Hanane et Fatima Habiba**

**A toute la promotion M2 toxicologie et sécurité Alimentaire**

**A tous qui me connaisse de près ou de loin**

*OUALI Chaïma*



# إِهْدَاء



إلى الينبوع الذي لا يمل العطاء الى من حاكت سعادتي بخيوط منسوجة من قلبها

**إلى والدتي العزيزة " عائشة "**

إلى من سعى و شقى لأنعم بالراحة و الهناء الذي لم يبخل بشيء من اجل دفعي

في طريق النجاح الذي علمني ان ارتقي سلم الحياة بحكمة و صبر

**إلى والدي العزيز " حاج "**

إلى من حبهم يجري في عروقي و يلهج بنكراهم فؤادي

**إلى اخواتي و اخواني**

إلى من سرنا سويا و نحن نشق الطريق معا نحو النجاح و الابداع الى من تكاتفنا

يدا بيد و تعلمنا

**إلى صديقتي و زميلاتي**

إلى من علمونا حروفا من ذهب و كلمات من درر و عبارات من اسمى و اجلى

عبارات في العلم من صاغوا لنا علمهم حروفا و من فكرهم منارة تنير لنا سيرة

العلم و النجاح

**إلى أساتذتنا الكرام**

ربيحي فاطمة حبيبة



## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

<b>AG</b>	Acide Gallique
<b>ALCl<sub>3</sub></b>	Trichlorure d'aluminium
<b>CE50</b>	Concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% la concentration initiale du ferricyanure de potassium
<b>CI50</b>	Concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration de DPPH• initiale de 50
<b>DPPH•</b>	2,2 - Diphenyl-1- Picrylhydrazyl
<b>EAS</b>	Extrait aqueux de Salvia Officinalis L
<b>EAT</b>	Extrait aqueux de Thymus Ciliatus
<b>EMS</b>	Extrait méthanolique de Salvia Officinalis L
<b>EMT</b>	Extrait méthanolique de Thymus Ciliatus
<b>EQ</b>	Equivalent quercétine
<b>ER</b>	Equivalent Rutine
<b>ES</b>	Erreur standard
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure de fer
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing An
<b>K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></b>	Ferricyanure de potassium
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Carbonate de sodium
<b>RFC</b>	Réactif de Folin Ciocalteu
<b>TCA</b>	Acide Trichloracétique
<b>Vit C</b>	Vitamine C

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau N°01</b>	Matériel et produits chimiques utilisés.....	09
<b>Tableau N°02</b>	Pouvoir réducteur (évalué par la technique FRAP et exprimé en CE50) des extraits de <i>Thymus ciliatus</i> et la <i>Salvia officinalis</i> L et les antioxydants standards. ....	25
<b>Tableau N°03</b>	Capacité de piéger le radical libre DPPH• par les différents extraits issus de <i>Thymus ciliatus</i> et la <i>Salvia officinalis</i> L.....	28

## ***LISTES DES FIGURES***

<b>Figure N°01</b>	La balance oxydatif d'équilibre entre le système pro et les antioxydants.	04
<b>Figure N° 02</b>	Thymus ciliatus.	05
<b>Figure N° 03</b>	Structure chimique de l'acide rosmarique.	06
<b>Figure N° 04</b>	Salvia officinalis L.	06
<b>Figure N° 05</b>	Structure chimique de l'acide ursolique.	07
<b>Figure N° 06</b>	Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale.	11
<b>Figure N°07</b>	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire (DPPH•) et un antioxydant (AH).	17
<b>Figure N°08</b>	Rendement d'extraction des composés phénoliques de Thymus ciliatus pour les trois solvants utilisés.	19
<b>Figure N°09</b>	Rendement d'extraction des composés phénoliques de Salvia officinalis L pour les trois solvants utilisés.	19
<b>Figure N°10</b>	Teneur en composés phénoliques totaux de Thymus ciliatus pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EAG/mg d'extrait.	21
<b>Figure N°11</b>	Teneur en composés phénoliques totaux de Salvia officinalis L pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EQ/mg d'extrait.	21
<b>Figure N°12</b>	Teneur en flavonoïdes de Thymus ciliatus pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EQ/mg d'extrait.	23
<b>Figure N°13</b>	Teneur en flavonoïdes de Salvia officinalis L pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EQ/mg d'extrait.	23
<b>Figure N°14</b>	Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de Thymus Ciliatus et Salvia Officinalis L exprimé en CE50.	26
<b>Figure N°15</b>	Capacité de l'extrait éthanolique de Thymus ciliatus et Salvia officinalis L à piéger le radicale libre DPPH• exprimé en CI50.	29



## ***LISTES DES ANNEXES***

### **III**

<b>Annexe I</b>	Les sources et les conséquences du stress oxydatif.....	01
<b>Annexe II</b>	Description, caractéristiques, classification de <i>Thymus ciliatus</i> .....	02
<b>Annexe III</b>	Description, caractéristiques, classification de <i>Salvia officinalis</i> L.....	03
<b>Annexe IV</b>	Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.....	04
<b>Annexe V</b>	Courbes d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydante.....	05
<b>Annexe VI</b>	Résultats numériques.....	11

<b>LISTES DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>I</b>
<b>LISTES DES TABLEAUX .....</b>	<b>II</b>
<b>LISTES DES FIGURES .....</b>	<b>III</b>
<b>LISTES DES ANNEXES .....</b>	<b>IV</b>

## ***INTRODUCTION***

### ***SOMMAIRE***

#### ***I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE***

I.1. Stress oxydant .....	03
I.2. Radicaux libres.....	03
I.3. Antioxydants .....	04
I.4. <i>Thymus ciliatus</i> .....	05
I.4.1. Composés bioactifs .....	06
I.5. <i>Salvia officinalis L.</i> .....	06
I.5.1. Composés bioactifs .....	07

#### **II. ETUDE EXPERIMENTALE**

II Matériel et méthodes .....	08
II.1. Objectif de travail .....	08
II.2. Lieu et durée de travail .....	08
II.3. Matériel et produits chimique .....	09
II.3.1. Matériel .....	09
II.3.2. Appareillage utilisés .....	09
II.4. Matériel végétal .....	10
II.5. Procédure Expérimental .....	10

II.5.1. Préparation du matériel végétal .....	12
II.5.2. Préparation des différents extraits a partir des plantes étudiées en utilisant la technique de macération .....	12
II.5.2.1. Calcul du rendement d'extraction.....	13
II.5.2.2. Dosage des composés phénoliques totaux.....	13
II.5.2.3. Dosage des flavonoïdes totaux .....	14
II.5.3. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits issus de <i>Thymus ciliatus</i> et de <i>Salvia officinalis L</i> .....	16
II.5.3.1. Test de la réduction de fer FRAP (Ferric Reducing Antioxydant power) .....	16
II.5.3.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2- diphenyl- picylhydrazyl).....	17
II.6. Etude statistique .....	18

### III.RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Rendement d'extraction.....	19
III.2. Quantification des composés phénoliques totaux .....	20
III.3. Quantification des flavonoïdes .....	23
III.4. Activité antioxydante .....	25
III.4.1. Evaluation du pouvoir réducteur des différents extraits de <i>Thymus ciliatus et Salvia officinalis L</i> par la technique FRAP (Ferric reducing antioxydant power) .....	25
III.4.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2 – diphenyl - 1pyridrazil) pour les différents extraits de <i>Thymus ciliatus et Salvia officinalis L</i> .....	28

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

# *Introduction*

Au cours de ces dernières décennies l'agriculture s'est intensifiée dans un but d'autosuffisance alimentaire, les produits phytosanitaires (PPP) ont donc été massivement et incisivement utilisés afin de garantir un fort rendement des récoltes et proposer des produits végétaux d'aspect irréprochables, garantir fruits et légumes, beaux, abondants, sans défaut, et presque en toute saison. Cependant et malgré l'utilisation des PPP se situe dans le cadre d'une activité économique ces produits restent avant tous nocif et leur utilisation est une question très controversée et fait matière à débats vis-à-vis des risques encourus sur la santé. En effet Parmi les 800 PPP utilisés dans le monde la plupart d'entre eux sont suspectés de participer à l'émergence des maladies métaboliques par leur action en tant que perturbateurs endocriniens. Ces substances sont ubiquitaires dans notre quotidien leur exposition entraîne à long terme, sur l'individu et/ou sa descendance, l'apparition des pathologies du développement, de la reproduction, et des cancers hormono-dépendants **(Nalbone et al., 2013)**. Ils sont capables d'affecter l'homéostasie en matière de poids et perturbent les mécanismes de contrôle de l'adipogénèse et de la balance énergétique **(Chevalier et al., 2017)**. En outre, ils pourraient aussi causer la formation accrue des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans de nombreux organismes, organes, tissus, d'où la contribution à l'installation d'un stress oxydatif exacerbé, un phénomène fortement impliqué dans le développement des maladies chroniques parfois mortelles, tels que les cancers et les maladies cardiovasculaires. À l'heure actuelle, la prévention et la prise en charge de ces pathologies à stress oxydatif sont devenues une priorité et un enjeu sanitaire et socio-économique, préoccupant les instances de santé publique. Donc mettre en place une prévention d'ordre nutritionnel particulièrement basée sur l'utilisation des molécules bioactive antioxydantes semblerai une stratégie rationnelle. Parmi ces biomolécules, les polyphénols issus des plantes médicinales occupent une place d'excellence et un choix à prendre en considération dans cette approche. Cependant, il a été clairement établi que l'efficacité phytothérapeutique et/ou pharmaceutique d'une plante médicinale, repose essentiellement sur l'aspect qualitatif et quantitatif de l'extrait issu de cette plante **(Yan et Asmah, 2010)**. C'est pour cette raison qu'il est nécessaire d'apporter une attention particulière au choix de la plante ainsi qu'au procédé et au type de solvants utilisés pour l'extraction de ces composés actifs et déterminer l'extrait phénolique à efficacité optimale. C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de ce présent travail. Il s'intéresse à la détermination du pouvoir antioxydant, *in vitro*, des extraits polyphénoliques issus de deux plantes médicinales, de la région de Tiaret, *Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L.*, afin de cribler l'extrait ayant l'activité antioxydante la plus importante et ce dans l'optique de

l'exploiter dans les stratégies de lutte et de prévention vis-à-vis du stress oxydatif, généré lors de l'exposition chronique aux polluants environnementaux particulièrement les produits phytosanitaire.

*Chapitre I*  
*Synthèse*  
*bibliographique*

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, il permet la respiration cellulaire, mais il peut devenir toxique et entraîner des effets dommageables dans l'organisme, (**Haleng et al., 2007**) via la production excessive des ERO, lorsque les capacités antioxydantes sont dépassées, un déséquilibre oxydatif est installé. (**Delphine et al., 2018**)

### ***1.1. Stress Oxydant***

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant » par définition est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène : dysfonctionnements de certaines sources de production et systèmes d'élimination des ROS ou une origine exogène. (**Favier, 2003**).

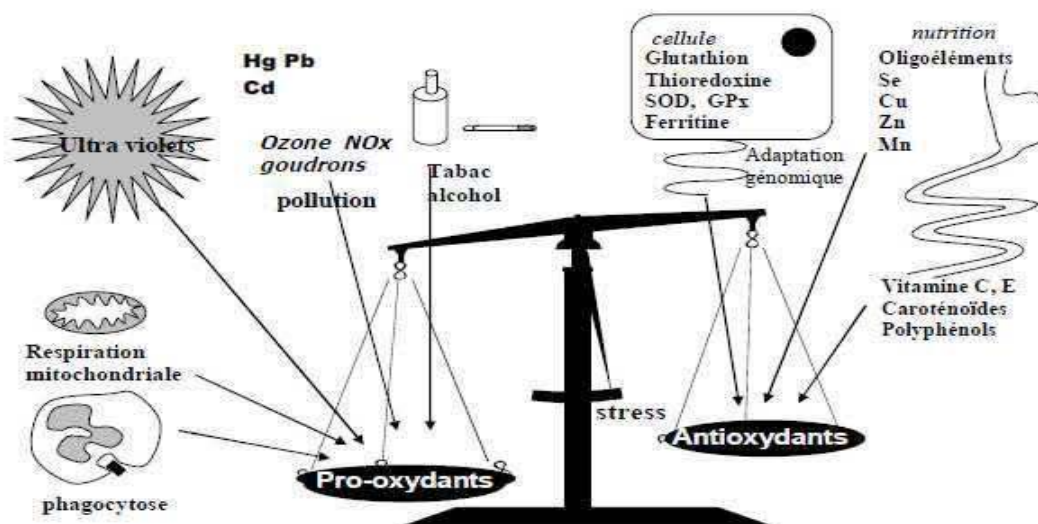
Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives, en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (**Christelle, 2006**)

### ***1.2. Radicaux libres***

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. (**Rochette et al., 2008**).

La perturbation de l'équilibre endogène entre radicaux libres et antioxydants de courte ou longue durée, provoque des effets délétères dus, soit à une défense antioxydante défaillante, soit à un état pro-oxydatif qui peut entraîner des dommages cellulaires à l'origine de nombreuses pathologies comme le cancer, l'obésité, le diabète, l'insuffisance rénale ou les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer). (**Edeas, 2005 ; Favier, 2006**).





**Figure N°01: Balance oxydative : d'équilibre entre les systèmes pro et les antioxydants (Favier, 2006).**

### ***1.3. Antioxydants***

Un antioxydant est une molécule qui inhibe l'oxydation de différentes molécules. Par ailleurs, l'oxydation est un processus chimique qui transfère des électrons ou de l'hydrogène d'une substance à un agent oxydant. Les réactions d'oxydation produisent des radicaux libres. Une fois que la réaction en chaîne s'installe dans la cellule, elle causera des dommages ou une mort cellulaire. Les antioxydants neutralisent ces réactions en éliminant les intermédiaires des radicaux libres et inhibant ainsi les différentes réactions d'oxydation (Hosseinzadeh *et al.*, 2015). Selon Favier, (2003) Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydant et consomment d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Aussi de très nombreux composés issus de notre alimentation comme certains micronutriments telles que les vitamines E et C et des composés bioactives comme les alcaloïdes, les composés phénoliques (polyphénols, le flavonoïde), agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, et les transforment en molécules ou en ions stables.

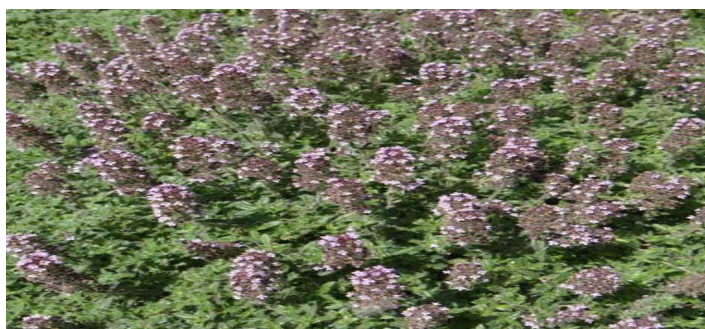
les composés phénoliques sont un groupe d'aromatique secondaires, métabolites végétaux largement répartis dans toute la plante, il a été rapporté qu'ils possèdent plusieurs effets biologiques telles que la capacité antioxydante, anti-inflammatoire

antibactérienne... , (**Charlampos et Komaitis, 2007**). Ces substance sont bien connues sous le nom de piègeurs des radicaux, agents réducteurs et donneurs d'hydrogène (**Hedrich et al., 2014**).

La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymériser. En effet les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, des phénylpropaniodes, et des tanins .(**Mahmoudi et al., 2013**). Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques de la plante comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation (**Boizot et Charpentier, 2006**). Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels, ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. (**Ghedira , 2005**). Ces composés sont largement distribués dans les fruits et légumes, ainsi que dans le thé, le café. Et également dans les plantes aromatiques et médicinales comme la sauge (*Salvia officinalis L*), le Thym (*Thymus ciliatus*) (**Benkhara et al., 2011**), qui sont les plus réponsus et utilisées dans la région de Tiaret.

#### ***1.4. Thymus ciliatus***

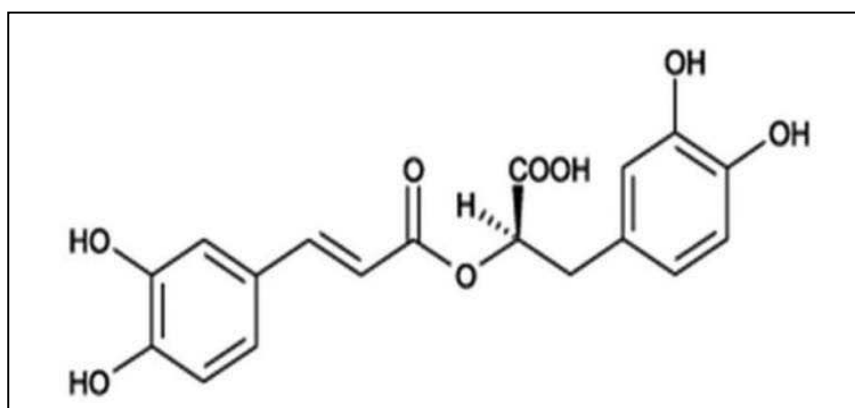
Le Thymus est l'un des genres les plus importants appartenant à la famille des lamiacées, et contient plus de 336 espèces de plantes herbacées vivaces aromatiques aux propriétés médicinales précieuses, la plus part des espèces sont originaires de la région méditerranéenne mais ont été distribuées dans le monde entier (**Soorni et al., 2019**) la flore algérienne existe 12 espèces parmi les quelle *Thymus ciliatus*, elle est utilisée par la population locale en médecine traditionnelle comme antifongique, antibactérien et agirait même comme antiviral, on lui reconnait également des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et digestives, le thym est aussi utilisé comme conservateur alimentaire en raison de sa forte capacité antioxydante. (**kholkhal et al., 2013**)



**Figure N° 02 : *Thymus ciliatus***  
**(Eberhard et al., 2005)**

### *1.4.1. Composés bioactifs*

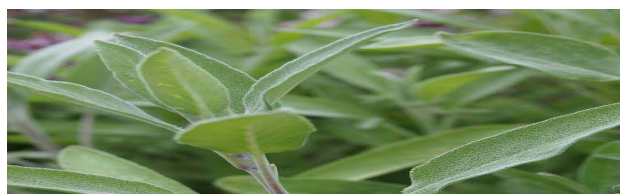
Les principaux constituants chimiques du thym sont des composants volatils (par exemple, les monoterpènes phénoliques). Les acides phénoliques (par exemple l'acide rosmarinique, l'acide caféique) et les flavonoïdes qui représentent une des plus grandes classes des produits naturels synthétisés par cette plante. (**Bendif et al., 2018**).



**Figure N° 03 : structure chimique de l'acide rosmarinique**  
(Fonny, 2014)

### *1.5. Salvia officinalis L*

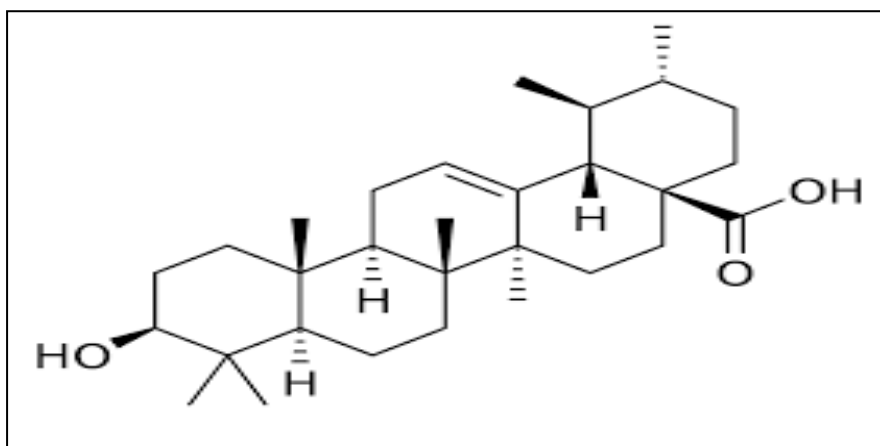
*Salvia Officinalis L* (sauge des jardins) est un sous arbrisseau vivace de la famille lamiacées, cette plante aromatique est originaire du région méditerranéenne est largement utilisé dans les industries pharmaceutiques et alimentaires (**Petrova et al., 2015**) par ailleurs la décoction des parties issues de la sauge, ainsi que les huiles essentielles de cette plante sont utilisées dans le traitement de maladie à large spectre, comme les troubles cardiaque, nerveux, maladies respiratoires, digestives, mais aussi métaboliques et les dérégulations endocriniennes, cette plante possède également une activité anti tumorale, elle est largement utilisé comme hypoglycémiant (**Neagu et al., 2011**). L'efficacité médicinale de la sauge est due les, flavonoïdes et autres polyphénols (**Petrova et al., 2015**).



**Figure N° 04 : Salvia officinalis L**  
(Mahboubi, 2014)

### ***1.5.1. Composés bioactifs :***

Les investigations photochimiques végétales ont révélé l'existence de nombreux composés bioactifs dans toutes les parties de la *Salvia officinalis L* depuis les racines jusqu'aux feuilles, ces molécules sont bien identifiées, un large éventail de constituants contenant : les alcaloïdes, les glucides, les acides gras dérivés glycosidiques, et environ 160 sortes de polyphénols, flavonoïdes, ont été identifiées comme ayant une activité biologique intéressante. (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017). Une étude chimique et pharmacologique effectuée sur les bienfaits de la sauge a révélé que l'acide ursolique était le principal composant impliqué dans l'activité anti-inflammatoire de cette plante médicinale. (Miraj et Kiani, 2016)



***Figure N°05 : structure chimique de l'acide ursolique***

***(Gilles, 2017)***

*Chapitre II*  
*Matériel*  
*Et*  
*Méthodes*

## ***II. Matériel et Méthodes :***

### ***II.1. Objectifs du travail :***

L'objectif assigné à cette étude est :

- ✓ D'optimiser l'extraction des composés phénoliques de deux plantes médicinales (*Thymus ciliatus*, *Salvia officinalis* L) par le biais de la technique de macération en utilisant trois solvants différents à savoir l'éthanol à 70% ; le méthanol à 70% et l'eau).
- ✓ De déterminer la teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes.
- ✓ D'évaluer l'activité antioxydante par la méthode de réduction du radical libre DPPH• et par la méthode du test FRAP (***Ferric Reducing Antioxidant Power***).
- ✓ De réaliser une comparaison entre les activités antioxydantes des extraits issus des deux plantes.

### ***II.2. Lieu et durée du travail :***

La partie expérimentale de ce présent travail a été réalisée au sein du laboratoire de recherche : Amélioration et Valorisation des Productions Animales Locales (LAVPAL), Université Ibn Khaldoun Tiaret, durant une période qui s'est étalée du 28 Janvier au 28 Février 2021.

**II.3. Matériel et produits chimiques :****II.3.1. Matériel****II.3.2. Appareillages utilisés**

Le matériel et les produits chimiques nécessaires à l'accomplissement de ce travail sont cités dans le *tableau N°01*.

**Tableau N°01. Matériel et Produits chimiques utilisés.**

<b>Matériel et Appareillages</b>	<b>Produits Chimiques et Réactifs</b>
Agitateur magnétique ( <b>ROTMAG</b> )	Acide Gallique( $C_7H_6O_5$ ; PM=170.12 g/mol)
Balance analytique ( <b>OHAUS</b> )	Carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ; PM = 106 g/mol)
Etuve ( <b>Haraeus</b> )	Chlorure de fer ( $FeCl_3$ ; PM = 162.2 g /mol)
Spectrophotomètre ( <b>SHMADZU</b> )	2,2- Diphenyl -1-Picrylhydrazyl (DPPH), ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ;PM=394.32 g/mol)
Micropipettes ( <b>C.LABO</b> )	Ethanol pur.
Vortex ( <b>TECHNO KARTELL</b> )	Ferricyanure de potassium ( $K_3[Fe(CN)]$ ; (PM=329.23g /mol)
Tamis ( <b>0.5 mm</b> )	Méthanol pur.
Broyeur ( <b>Mouninex</b> )	Réactif de Folin- ciocalteau (PM = 188.14 g/mol)
	Trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ;PM =133.34 g/mol)
	Vitamine C (PM =176g/mol).
	Quercétine ( $C_{15}H_{10}O_7$ ; PM=302,236 g/mol)

#### ***II.4. Matériel végétal :***

Les deux plantes qui ont fait l'objet de notre étude sont :

Le *Thymus ciliatus* et La *Salvia officinalis L.* Ces dernières ont été achetées chez un herboriste de la Wilaya de **Tiaret**, et elles ont été identifiées au sein de La faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université ***Ibn Khaldoun de Tiaret***, par Dr. ***Ait Hamou*** et Dr. ***Dahmani***

#### ***II.5. Procédure Expérimentale***

La procédure expérimentale regroupant les différentes étapes réalisée au cours de cette étude est illustrée dans ***la figure N°02***



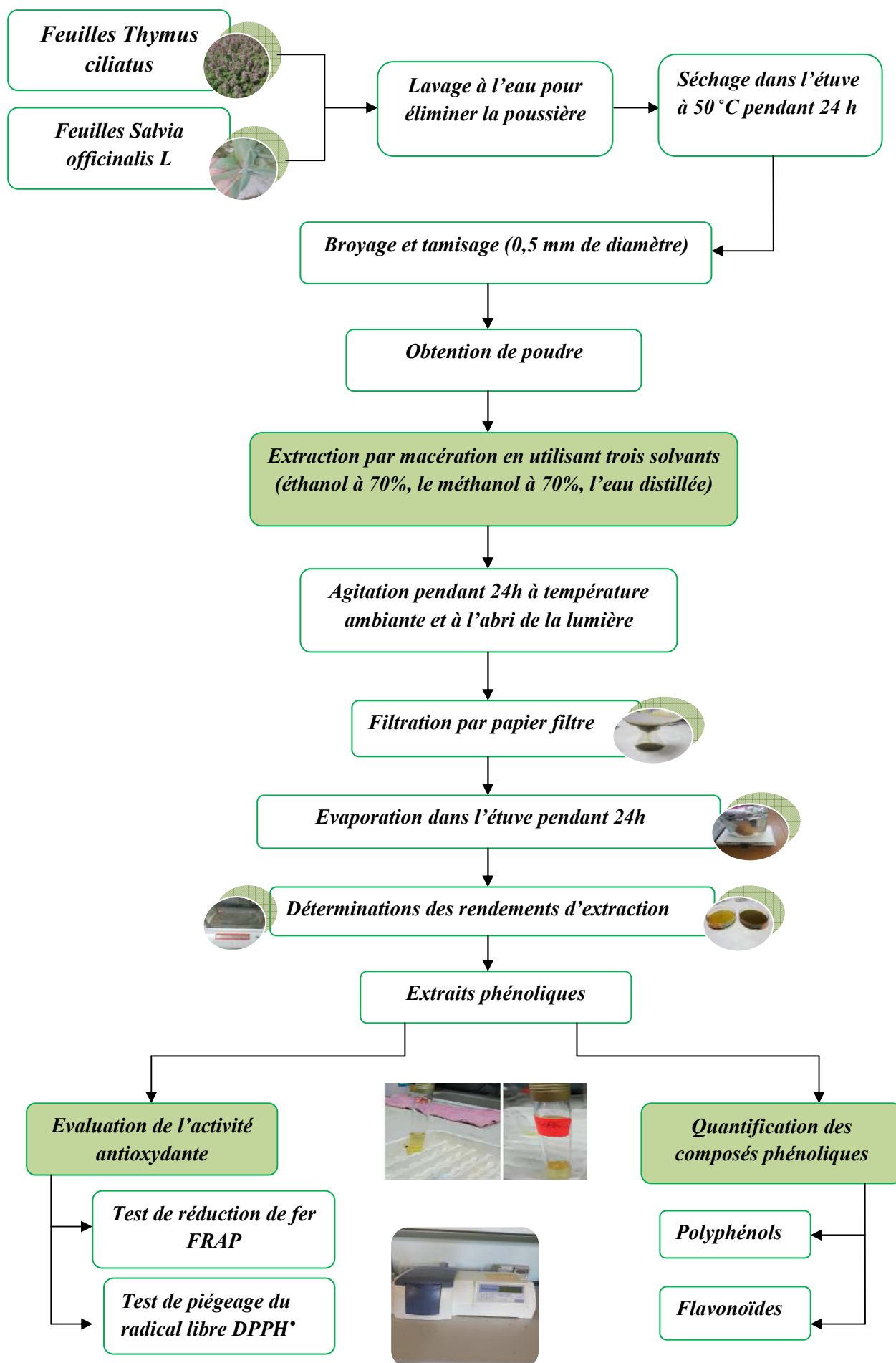


Figure N°06 : Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale.

### ***II.5.1. Préparation du matériel végétal***

Les deux plantes médicinales (*Thymus ciliatus* et la *Salvia officinalis L*) ont été soigneusement nettoyée à l'eau pour éliminer les poussières puis étalées et séchées avec du papier absorbant. Elles ont ensuite été mises dans l'étuve à 50°C. Les plantes séchées ont été découpées et broyées à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisées dans un tamis ayant un diamètre de 0,5 mm; de manière à obtenir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été réalisés. Les poudres ainsi obtenues ont été conservées et stockées à l'abri de l'humidité jusqu'à l'utilisation.

### ***II.5.2. Préparation des différents extraits à partir des plantes étudiées en utilisant la technique de macération***

#### ***Principe :***

Le principe de cette méthode consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide afin d'en extraire les principes actifs. Pour ce faire, le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide/liquide, ensuite dissoudre le composé actif présent à l'intérieur et l'entraîner vers l'extérieur. Plusieurs auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Lumbu et al., 2005**).

#### ***Technique***

Afin d'évaluer le meilleur solvant qui optimise le rendement d'extraction, on a utilisé trois solvants; l'éthanol à 70%, le méthanol à 70%, et l'eau distillée. En effet, 10 g de chaque plante sous forme de poudre ont été macérés dans 100 ml de solvants précédemment cités sous agitation pendant une durée de 24h à une température ambiante et à l'obscurité. Après la filtration sur papier filtre, le filtrat obtenu a été débarrassé de son solvant par évaporation à 50°C afin d'obtenir un extrait sec. Ce dernier, a été conservé à -20°C pour des éventuelles expérimentations (**Hadrich et al., 2014**).

### ***II.5.2.1. Calcul des rendements d'extraction***

Le poids de l'extrait sec (PF) a été calculé par la différence entre le poids de la boîte de pétri en verre contenant l'extrait (après élimination du solvant) et le poids de la boîte de pétri vide. Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (PPF/PI) \times 100$$

Avec R : Rendement en pourcentage (%)

PF: Poids de l'extrait sec en g

PI : Poids de la poudre mise à l'extraction en g

### ***II.5.2.2. Dosage des composés phénoliques totaux***

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits de chaque plante (le *Thymus ciliatus*, la *Salvia officinalis L*) a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au folin-ciocalteau décrite par **Singleton et al., (1999)**.

#### ***Principe***

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotomètre en utilisant la méthode de folin-ciocalteau, ce réactif est un acide de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par ce réactif, cette réaction entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu.

La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre une longueur d'onde 750 nm et 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

### ***Technique***

250 µl de chaque extrait (préparé à des concentrations croissantes et qui varie de 0,2 à 0,0078 mg/ml) ont été ajoutés à 250 µl de réactif de folin-ciocalteau (RFC) à 0,2 N et 2 ml d'eau distillée. Après une incubation de 5 min et à l'abri de la lumière, 500 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7,5% ont été additionnés. Le mélange ainsi obtenu a été incubé de nouveau pendant 20min à une température ambiante et à la l'abri de la lumière. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 760 nm contre un blanc sans extrait. Notons qu'une courbe d'étalonnage a été parallèlement réalisée (***voir l'annexe***) afin de quantifier le taux de polyphénols totaux dans les différents extraits. Cette courbe a été établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0,5; 0,125; 0,0625; 0,031; 0,0156; 0,0078 mg/ml) utilisé comme standard de référence, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les teneurs en composés phénoliques ont été exprimées en µg EAG /mg d'extrait. Toutes les mesures ont été faites en triplicata, les résultats ont été obtenus selon la formule suivante.

$$C=(c \times D \times v)/m$$

Avec : C : Teneur en polyphénols totaux (µg EAG / mg d'extrait)

c : concentration de l'échantillon calculée

D : facteur de dilution

V : volume du solvant en ml utilisé pour l'extraction

m : Masse de l'échantillon en g utilisée dans l'extraction

#### ***II.5.2.3. Dosage des flavonoïdes totaux***

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits des plantes. a été réalisée par la méthode de **Bahorun et al., (1996)**.

#### ***Principe***

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des flavonoïdes à se complexer avec le Trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Il en résulte la formation de complexes jaunâtres avec les atomes, d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Ces complexes présentent une absorption maximale à 430 nm.

***Technique***

1ml de l'échantillon à différente concentration variant de 0,5mg/ml à 0,125 mg/ml a été mélangé avec 1 ml de chlorure d'aluminium. Le mélange a été incubé à température ambiante et l'obscurité pendant 30min. l'absorbance est lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde de référence (la quercétine) avec différentes concentrations (2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 mg/ml).

La teneur en flavonoïdes a été exprimée en microgramme équivalent de quercétine) par gramme de poids sec des plantes ( $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait sec). Les résultats sont obtenus selon l'équation suivante.

$$C=(c \times D \times v)/m$$

Avec :

C : Teneur en flavonoïdes ( $\mu\text{g EQ/ mg}$  d'extrait)

c : concentration de l'échantillon calculée

D : facteur de dilution

V : volume du solvant en ml utilisé pour l'extraction

m : Masse de l'échantillon en g utilisée dans l'extraction

### ***II.5.3. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits issus de *Thymus ciliatus* et de *Salvia officinalis* L***

Dans la présente étude, l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits de *Thymus ciliatus* et de *Salvia officinalis* L. a été mise en évidence par deux techniques chimiques à savoir : le pouvoir réducteur du fer et le test de piégeage du radical DPPH•.

#### ***II.5.3.1. Test de la réduction de fer FRAP (Ferric Reducing Antioxydant power)***

##### ***Principe***

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de  $Fe^{3+}$ /complexe Ferricyanide à la forme Ferreux. Par conséquent,  $Fe^{2+}$  peut-être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm, en d'autre thème, le système  $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$  confère à la méthode la sensibilité pour la détermination semi quantitative des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction redox. (Bougandoura *et al.*, 2012).

##### ***Technique :***

Le pouvoir réducteur du fer  $Fe^{3+}$  dans les extraits a été déterminé selon la méthode décrit par Oyaizu (1986).

500µl de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 500 µl d'une solution de tampon phosphate 0,2M (PH = 6,6) et 500µl d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3 Fe(CN)_6$  à 1%. L'ensemble a été incubé à 50°C pendant 20 min ensuite, 500 µl d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. A partir du mélange réactionnel précédent un aliquote de 1 ml a été combiné avec 1ml d'eau distillée et 500µl d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0,1%. L'absorbance du mélange réactionnel a été lue à 700 nm contre un blanc préparé de la même manière, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

Le contrôle positif est représenté par deux solutions d'antioxydant standard: l'acide gallique, et l'acide ascorbique (vitamine C) dont les absorbances ont été mesurées dans les

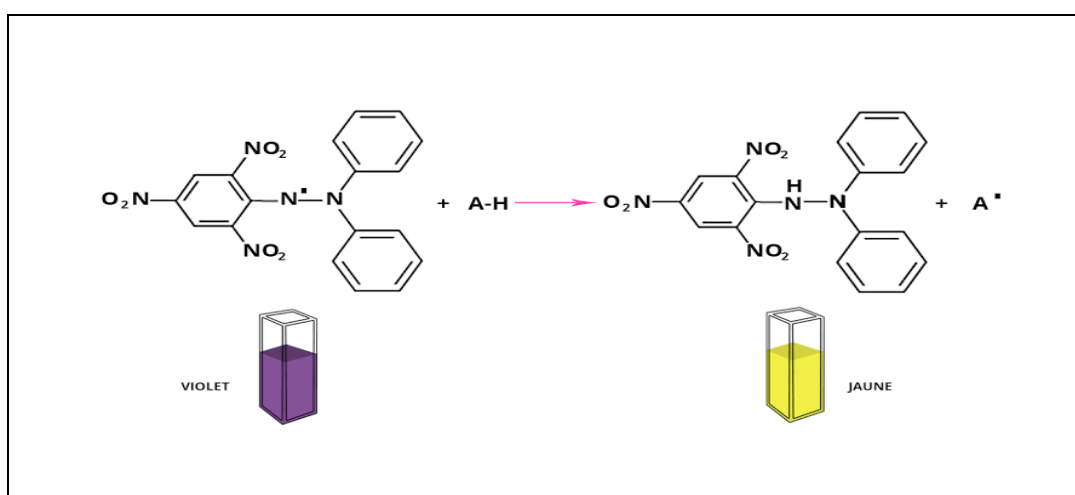
mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le potentiel réducteur des extraits et des standards est exprimé par les valeurs de concentration effectives à 50% (CE50).

Celle-ci a été rapportée comme étant la quantité d'antioxydant requise pour réduire 50% de concentration initiale de ferricyanure de potassium utilisée. La CE50 la plus faible correspond à l'activité la plus importante.

### II.5.3.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2 – diphenyl–picylhydrazyl)

La méthode de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> (2,2–diphenyl–picylhydrazyl) est largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant.

A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui est changée par la couleur jaune au contact d'une substance donneuse de protons H<sup>+</sup>, cette couleur est l'indicateur du pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Blois, 1958; Berande *et al.*, 1995).



**Figure N° 07 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH<sup>•</sup> entre l'espèce radicalaire (DPPH<sup>•</sup>) et un antioxydant (AH).**

### *Technique*

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2 –diphényl– picrylhydrazyl *DPPH*<sup>•</sup>. Ce dernier est réduit en hydrazine (une forme non radicale) en acceptant un atome d'hydrogène. L'effet de chaque extrait sur le *DPPH*<sup>•</sup> est mesuré par la procédure décrite par (**Sanchez et al., 1998**).

Un volume de 750 µl des solutions de *DPPH*<sup>•</sup>, à 4 mg/100 ml, a été mélangé avec 750 µl des différents extraits et des antioxydants standards (acide gallique, et vitamine C) à différentes concentrations (2 à 0,125 mg/ml). Le mélange réactionnel a été incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 50 min, une lecture de l'absorbance a été effectuée à 517 nm. Les valeurs de CI50 ont été déterminées graphiquement par la régression exponentielle des extraits et des solutions standards (**voir annexe**). CI50 est définie comme la concentration de l'échantillon qui produit 50 d'effet piègeur du radical *DPPH*. La valeur de CI50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

### **II.6. Etude statistique :**

Les analyses des données ont été réalisées par le logiciel statistique Statsoft (version 6, 1 Statsoft, Tulsa. Ok) L'ANOVA à un facteur a été utilisée pour effectuer la comparaison des moyennes. Cette analyse a été suivie par le test Post-hoc tukey afin de déterminer les différences significatives et comparer les moyennes deux à deux. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour un *p* value inférieur à 0,05 dans l'ensemble des analyses statistiques. Les constatations suivantes ont été retenues :

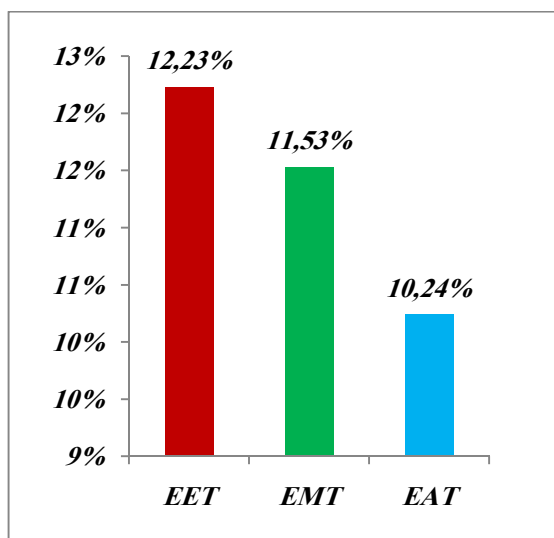
- Pour un  $p < 0,05$  la différence est significative (\*)
- Pour un  $p < 0,01$  la différence est très significative (\*\*)
- Pour un  $p < 0,001$  la différence est hautement significative (\*\*\*)



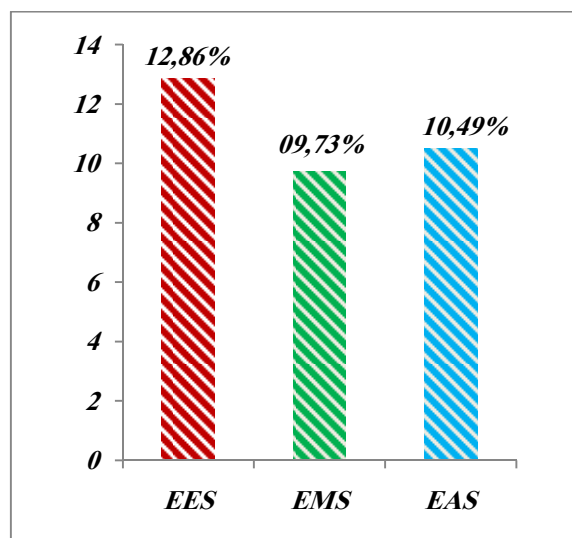
*Chapitre III*  
*Résultats*  
*Et*  
*Discussion*

### III .1. Rendements d'extraction

Le rendement désigne le rapport de la masse de l'extrait sur la masse du broyat, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du broyat soumis à l'extraction. **Les figures N°08 et N°09** présentent la moyenne des rendements d'extraction des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* et la *Salvia officinalis L* en utilisant les trois solvants (éthanol, méthanol à 70% et l'eau distillée)



**Figure N°08 : Rendements d'extraction des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* dans les fractions éthanolique méthanolique et aqueux**



**Figure N°09 : Rendements d'extraction des composés phénoliques de *Salvia officinalis L* dans les fractions éthanolique méthanolique et aqueux**

Le rendement d'extraction en polyphénols diffère avec les types de solvants d'extraction. En effet, ces derniers agissent différemment sur la quantité de polyphénols extraite. Les résultats illustrés dans **les figures N°08 et N°09** indiquent que l'extrait éthanolique présente le rendement le plus important pour les deux plantes (*Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L*) et ce avec un pourcentage massique de: 12,23% et de 12,86 % respectivement. Par ailleurs, l'extrait aqueux présente le rendement le plus faible en comparaison avec les deux autres extraits: éthanolique et méthanolique, celui-ci enregistre un rendement d'extraction de 10,24 % dans le cas de *Thymus ciliatus* et de 9,73 % pour *Salvia officinalis L*.

**Tamert et al., (2017)** indiquent un rendement d'extraction de 04,33% pour l'extrait éthanolique issu de *Thymus serpyllum* et un pourcentage massique de 12,35% pour l'extrait éthanolique issu de *Thymus vulgaris* ce rendement est quasi identique à celui obtenu au cours de cette étude (11,53 %), ces auteurs ont utilisé la technique de décoction et de l'éthanol pur comme solvant d'extraction. Aussi que **(Mohamed et al., 2012)** ont enregistré un pourcentage de 19,49% pour l'extrait éthanolique de 95% par la technique de macération issu de *Thymus vulgaris*.

En outre, **(Ivan et al., 2013)** démontrent des rendements issus de l'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris* de l'ordre de 10,55%, 15,91%, 21, 84% en utilisant des températures d'extraction différentes, on note 60°C, 130°C, 200°C respectivement.

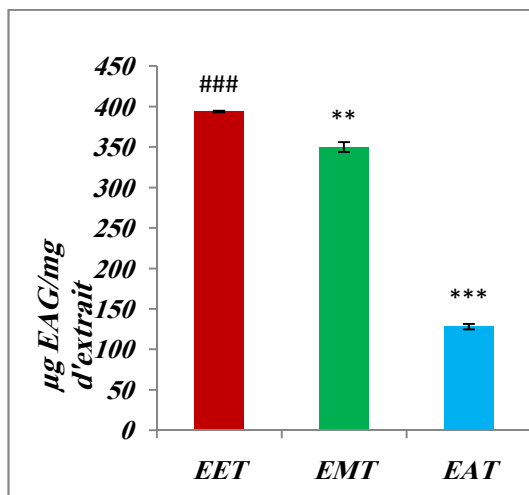
Dans une investigation réalisée par **(Hammoudi et al., 2017)** sur les activités biologiques des extraits phénoliques issus de *Salvia chudaiei Batt*, le rendement obtenu en utilisant l'éthanol pur comme solvant, est de l'ordre de 11,7% par le biais de la technique de macération, ces derniers présentent une autre concentration massique d'extraction évaluée à 12,7% et ce pour le même solvant (l'éthanol), mais en utilisant la technique de Soxhlet comme technique d'extraction, ces résultats vont de pair avec ceux obtenus au cours de cette présente étude **(voir figure N°09)**.

Toutefois il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature. En effet, le rendement est relatif, il dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée **(Lee et al., 2003)**.

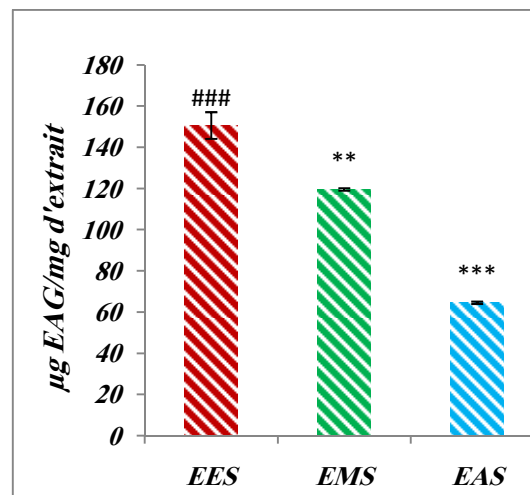
En terme général, l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de leur structure chimique, du type de solvant utilisé, de la méthode d'extraction de la granulométrie et du temps de macération. Les extraits phénoliques des plantes sont généralement des mélanges des différentes classes de composés phénoliques qui sont solubles dans le solvant utilisé. La solubilité de ces derniers dépend du type de solvant utilisé (polarité) et leur degré de polymérisation. **(Felhi et al., 2017)**.

### III.2. Quantification des composés phénoliques totaux :

Les figures N°06 et N°07 représentent les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits hydro alcooliques et aqueux pour les deux plantes étudiées.



**Figure N°10 : Teneur en composés phénoliques totaux du *Thymus ciliatus* pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EAG par mg d'extrait**



**Figure N°11 : Teneur en composés phénoliques totaux du *Salvia officinalis L* pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EAG par mg d'extrait**

Les valeurs représentées correspondent à la moyenne ± l'écart-type, de trois essais indépendants

(\*\*\*): EET vs EMT; (\*\*): EET vs EAT; (###): EMT vs EAT

(\*\*\*): EES vs EMS; (\*\*): EES vs EAS; (###): EMS vs EAS

Les résultats obtenus par la technique de macération en utilisant l'éthanol, le méthanol à 70 % et l'eau distillée montrent que la quantité des polyphénols diffère entre les deux plantes et d'un solvant d'extraction à l'autre, la quantification des composés phénoliques indique que les teneurs en ces composés issus de *Thymus ciliatus* sont respectivement  $394,155 \pm 0,86$ ;  $350,17 \pm 6,052$ ;  $128,315 \pm 3,457$ , exprimées en µg EAG / mg d'extrait ; pour les extraits éthanolique, méthanolique et aqueux. Alors que les teneurs en composés phénoliques de *Salvia officinalis L* sont de l'ordre de  $150,63 \pm 6,5053$ ;  $119,625 \pm 0,629$ ;  $64,603 \pm 0,561$  exprimées en µg EAG / mg d'extrait ; pour les mêmes extraits cités précédemment.

La comparaison entre les trois extraits permet de déduire que l'extrait éthanolique représente l'extrait contenant la grande teneur en polyphénols pour les deux plantes. Cette divergence entre les différentes teneurs en composés phénoliques est hautement

significative entre les différents extraits, on note *p* value de l'ordre de 0,0002 pour l'EET en comparaison avec l'EMT et l'EAT. Cette constatation s'observe également pour les extraits issus de *Salvia officinalis* L, on note un *p* de 0,0003 pour l'EES versus l'EMS et un *p* de 0,0002 pour l'EES versus l'EAS. Cependant, quel que soit le solvant d'extraction utilisé, les teneurs en polyphénols des extraits issus de *Thymus ciliatus* sont largement supérieures aux extraits issus de *Salvia officinalis* L.

L'étude réalisée par **oubihi et al. (2020)**, sur la teneur polyphénolique de *Thymus leptotrys murb* apporte une valeur de  $214,26 \pm 2,079$  µg EAG/mg, cette équipe a utilisé l'éthanol pur et la macération comme technique d'extraction. D'autres chercheurs indiquent que la teneur en composés phénoliques de l'extrait éthanolique issu de du *Thymus vulgaris* est de l'ordre de 158 µg EAG/mg (**Koksal et al., 2016**). Par ailleurs, (**Ryszard et al., (2008)**), démontrent dans leurs étude menée sur l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de thym, une teneur de  $203 \pm 6$  µg EAG/mg, l'éthanol utilisé pour la macération par ces chercheurs était à 95 %. L'ensemble de ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus au cours de cette présente étude.

Parallèlement **Abdeslam et al. (2016)**, indiquent une concentration en composés phénoliques de l'extrait éthanolique issu de *Salvia officinalis* de  $102,04 \pm 2,00$  µg EAG / mg cette dernière varie considérablement en comparaison avec notre étude. **Dragan et al. (2011)** illustre une quantité de  $138,4 \pm 1,48$  µg EAG/mg d'extrait éthanolique à 70%.

Par ailleurs, **Nagwa et al. (2012)** enregistre des quantités en composés phénoliques nettement inférieures, on note  $94,35 \pm 1,39$  µg EAG/mg d'extrait, ces auteurs ont utilisé de l'éthanol à 80 % comme solvant d'extraction.

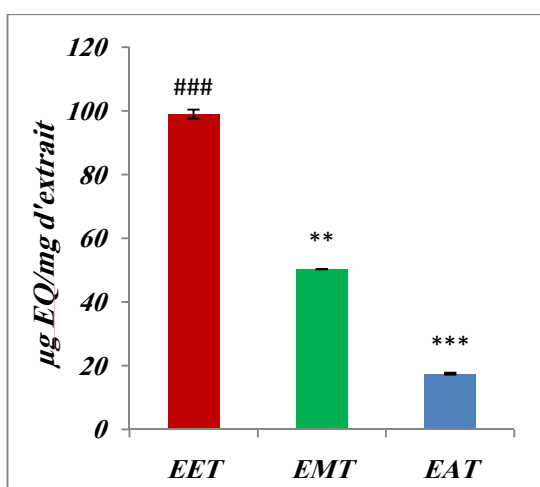
En outre, **Hammoudi et al. (2017)** ont démontré que la concentration en polyphénols de l'extrait issu du *Salvia chudaei*, en utilisant toujours la même technique et le même solvant d'extraction (l'éthanol à 80%), est de  $16 \pm 4$  µg EAG/mg d'extrait. Ils indiquent une autre teneur évaluée à  $23 \pm 0,3$  µg EAG/mg d'extrait obtenu via la technique de Soxhlet.

Les divergences constatées entre nos résultats et ceux de la littératures peuvent être tributaires de certains facteurs susceptibles d'influencer de manière significative l'estimation du rendement d'extraction, les teneurs et le type des composés phénoliques totaux, ces derniers sont dépendants de la méthode, du solvant, des conditions expérimentales dans lesquelles l'extraction a été effectuée et d'un certain nombre de

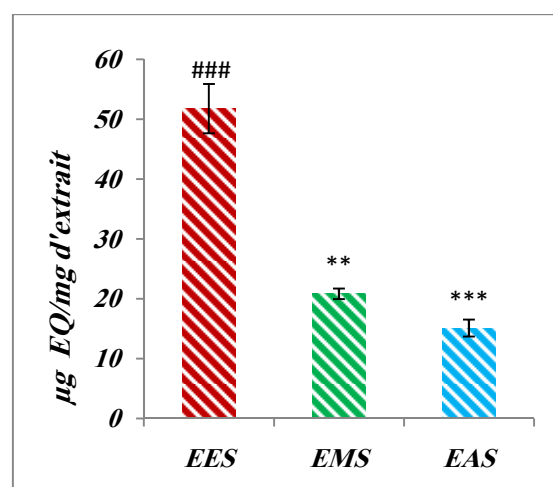
facteurs intrinsèques(génétique) et extrinsèques (la situation géographique, l'âge de la plantation, les conditions climatiques, la période de récolte des feuilles, et les conditions de stockage (**Hayouni et al., 2007 ; Grujic et al., 2012 ; Felhi et al., 2017**))

### III.3. Quantification des flavonoïdes :

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus ré pondu des composés phénoliques, les teneurs en flavonoïdes des différents extraits issus des deux plantes sont représentées dans *les figures N°12 et N°13*.



**Figure N°12 : Teneur en flavonoïdes du *Thymus ciliatus* pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EQ /mg d'extrait**



**Figure N°13: Teneur en flavonoïdes du *Salvia officinalis* pour les trois solvants utilisés exprimée en µg EQ/ mg d'extrait**

*Les valeurs représentées correspondent à la moyenne ± l'écart-type, de trois essais indépendant*

(\*\*\*): EET vs EMT; (\*\*): EET vs EAT; (###): EMT vs EAT

(\*\*\*): EES vs EMS; (\*\*): EES vs EAS; (###): EMS vs EAS

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en flavonoïdes des extraits issus de *Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L* varient entre  $99 \pm 1,414 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait et  $51,765 \pm 4,122 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait. L'extrait aqueux contient le taux le plus faible en flavonoïdes avec une valeur de  $7,475 \pm 0,275 \mu\text{g EQ/mg}$  pour le *Thymus ciliatus* et de  $15,103 \pm 1,42 \mu\text{g EQ/mg}$  pour la *Salvia officinalis L*, suivi de l'extrait méthanolique pour les deux plantes respectivement  $50,335 \pm 0,09 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $20,820 \pm 0,877 \mu\text{g EQ/mg}$ . Par ailleurs l'extrait éthanolique est celui qui contient le taux le plus élevé, ce qui signifie qu'il est le meilleur extrait pour les deux plantes, avec une concentration de  $99 \pm 1,414 \mu\text{g EQ/mg}$  pour le *Thymus ciliatus* et de  $51,765 \pm 4,122 \mu\text{g EQ/mg}$  pour la *Salvia officinalis L*. La différence constatée est hautement significative avec  $p$  évalué à 0,0002 pour l'EET versus l'EMT et l'EAT et un  $p$  de 0,002 pour l'EES versus l'EMS et l'EAS. Le *Thymus ciliatus* présente une bonne teneur en flavonoïdes contrairement à *Salvia officinalis L*.

Des études antérieures ont également montré des résultats variables en comparaison avec notre étude, en effet la teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique pur issu de *Thymus ciliatus* et en utilisant la technique d'extraction assistée par ultrasons est estimée par Miora et ces collaborateurs (2021) à  $28,93 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait. Cependant Oubihi et al. (2020) suggèrent une valeur de  $144,41 \pm 1,537 \mu\text{g RE/mg}$  d'extrait pour le *Thymus leptobotrys Murb*. Aussi dans une étude réalisée sur *Thymus ciliatus* les teneurs en flavonoïdes dans l'extrait éthanolique à 70%, obtenus par macération, est de  $134,34 \pm 8,97 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait (Gamoune et al., 2015).

Les résultats du dosage des flavonoïdes du *Salvia officinalis L* obtenus par l'étude de Abedeslam et al. (2016) montrent une teneur de  $26,13 \pm 2,96 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait éthanolique. Cependant Dragan et al. (2011) rapportent dans leur étude une teneur de  $94,4 \pm 0,55 \mu\text{g/mg}$  d'extrait. Hammoudi et al. (2017) et en utilisant la même technique d'extraction (la macération) présentent une teneur de  $62 \pm 5 \mu\text{g ER/mg}$  d'extrait éthanolique à 80% pour la *Salvia chudaei*, par ailleurs ils évoquent une seconde teneur de  $71 \pm 4 \mu\text{g ER/mg}$  d'extrait lors de la réalisation de l'extraction par la technique de Soxhlet. Cette dissimilitude observée entre nos résultats et ceux de la littérature, pour la teneur en flavonoïdes peut être attribuée à plusieurs facteurs tels que les facteurs climatiques et environnementaux, la zone géographique, sécheresse du sol (Ebrahmi et al., 2008), la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Miliauskas et al., 2004), la

méthode d'extraction et la méthode de quantification et enfin les conditions de stockage (Lee *et al.*, 2003 ; Felhi *et al.*, 2017)

### III.4. Activité antioxydante :

#### III.4.1. Evaluation du pouvoir réducteur des différents extraits de *Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L* par la technique FRAP (Ferric Réduction Antioxydant Power) :

Les résultats concernant l'activité réductrice des extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) de *Thymus ciliatus*, de *Salvia officinalis L* et des antioxydants standards (l'acide gallique, et de l'acide ascorbique), sont illustrés dans le **tableau N°02**. Ils sont exprimés en concentration effectrice à 50% (CE50).

**Tableau N°02 : Pouvoir réducteur (évalué par la technique FRAP et exprimé en CE50) des extraits de *Thymus ciliatus* et de *Salvia officinalis L* et des antioxydants standards**

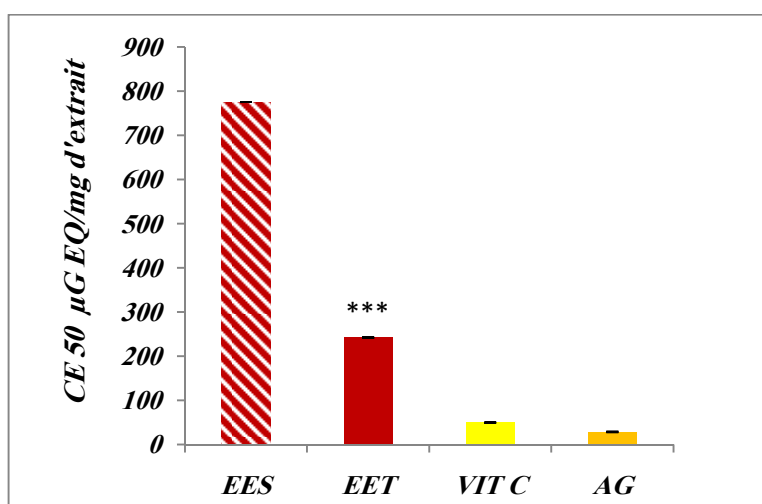
Plantes	CE50 Exprimée en µg/ml				
	AG	VIT C	ETHANOL	METHANOL	AQUEUX
<i>Thymus ciliatus</i>	28,77±1,005	50±0,006	242,25±0.3535	479±5,656	907,1515±2,614
<i>Salvia officinalis L</i>	28,77±1,005	50±0,006	775,65±0,002	830,15±0,004	1704,8±0,004

L'ensemble des résultats mentionnés dans le **tableau N°02**, indiquent que les extraits éthanolique issus de *Thymus ciliatus* présentent une activité antioxydante reflétée par la capacité réductrice du fer significativement la plus élevée et ce en les opposant aux extraits méthanolique et aqueux. Les concentrations effectrices pour les extraits éthanolique, méthanolique et aqueux issus *Thymus ciliatus* sont respectivement : 242.25 ± 0,3535 µg/ml ; 479 ± 5.656 µg/ml ; 907.1515 ± 2.614 µg/ml. Par ailleurs les extraits éthanolique, méthanolique et aqueux issus de *Salvia officinalis L* exercent un effet réducteur du fer avec des concentrations effectrices de l'ordre de 775.65 ± 0.002 µg/ml ;



830.15 ± 0.004 µg/ml et 1704.8 ± 0.004 µg/ml respectivement. L'analyse statistique de nos données indique une différence hautement significative avec  $p$  de 0,0002 entre l'EET, l'EMT et l'EAT ceci est constaté pour le *Thymus ciliatus* ainsi que pour la *Salvia officinalis L.*

Néanmoins, ce pouvoir de réduction du fer est largement faible par rapport au pouvoir réducteur des substances antioxydantes standards. Ceci est remarqué via les CE50 de l'Acide gallique évaluée à 28,77 ± 1,005 µg/ml et la CE50 de l'acide ascorbique : évaluée à 50 ± 0.006 µg/ml. Il en ressort que l'acide gallique présent un fort pouvoir réducteur comparativement à nos extraits éthanolique issus de *Thymus ciliatus*, *Salvia officinalis L.* et la vitamine C du fait de sa faible CE50.



**Figure N°14: Pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de *Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L* exprimé en CE50**

Les valeurs représentées correspondent à la moyenne ± l'écart-type, de trois essais indépendants

(\*\*\*) : EET vs EES

Les résultats illustrés dans **la figure N°14**, indique que l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *Salvia officinalis L* est inférieure à celle de *Thymus ciliatus*, cette différence est hautement significative avec  $p = 0,002$ .

On constate aussi une augmentation proportionnelle de la réduction du fer avec l'augmentation des concentrations des extraits des plantes étudiées. Ceci met en évidence

une corrélation entre la teneur en polyphénols, essentiellement les flavonoïdes, et la capacité antioxydante des extraits reflétés par la capacité de réduire le fer.

La comparaison de l'activité antioxydante de notre étude et celle indiquée par **Ayça et al., (2019)** et menée sur *Thymus vulgaris* et *Thymus spicata*, rapporte que l'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris* et *Thymus spicata* présente une capacité réductrice très élevée par rapport aux nos extraits avec des concentrations de l'ordre  $26.93 \pm 0.025 \mu\text{g/ml}$  ;  $14.19 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$  respectivement.

Cette présente étude démontre une activité antioxydante de l'extrait éthanolique issus de *Salvia officinalis L* déterminée par le test de FRAP légèrement supérieur à celle présentée dans littérature et reflétée par une CE50 de  $846.4 \pm 44.7 \mu\text{g/ml}$  (**Silva et al., 2020**). Cependant celle-ci demeure largement inférieure au pouvoir réducteur présenté par **Dragan et al. (2011)**, on note  $775.65 \pm 0.002$  versus  $23.86 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$ .

### III.4.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) pour les différents extraits de *Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L*

Les propriétés antioxydantes sont mesurées et mis en évidence par la concentration efficace CI50, cela correspond à la réduction de 50% de la concentration du DPPH• dans le milieu réactionnel, la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CI50 est petite, **La figure N°15** illustre les différentes CI50 obtenues avec les extraits et les standards.

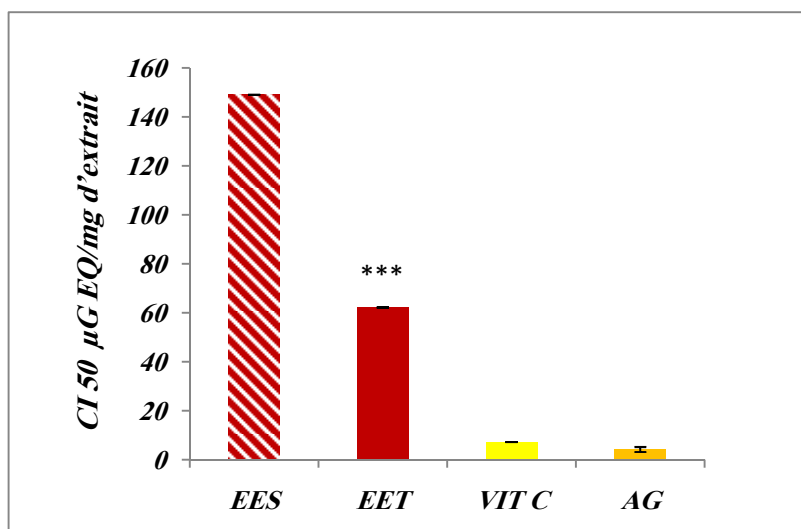
**Tableau N°03 : Capacité de piéger le radical libre DPPH• par les différents extraits issus de *Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L***

Plantes	CI50 Exprimée en µg/ml				
	AG	VIT C	ETHANOL	METHANOL	AQUEUX
<i>Thymus ciliatus</i>	4,26±0,185	7,24±0,209	62,262±0,0011	72,7254±0,0008	174,456±0,005
<i>Salvia officinalis L</i>	4,26±0,185	7,24±0,209	149,15±0,003	367,6±0,0012	425,2±0,025

D'après les résultats de la technique de piégeage du radical libre (DPPH•), l'extrait éthanolique représente l'extrait le plus actif et ce pour les deux plantes étudiées. En effet l'extrait éthanolique de *Thymus ciliatus* est capable de scavanger le radical DPPH• avec une CI50 de l'ordre de 62,2622 ± 0,0011 µg/ml. Les deux autres extraits, méthanolique et aqueux, montrent une activité inférieure à celle de l'extrait éthanolique avec des CI50 évaluées à 72,7254 ± 0,0008 µg/ml et de 174,456 ± 0,005 µg/ml respectivement.

Dans les mêmes conditions expérimentales l'extrait éthanolique issu de *Salvia officinalis L*, exerce un effet antiradicalaire avec une CI50 de l'ordre 149,15 ± 0,003 µg/ml, supérieur à celui exerce par l'extrait méthanolique, les CI50 sont l'ordre de 367,6 ± 0,003 µg/ml et de 425,2 ± 0,025 µg/ml respectivement de plus et pour les deux plantes et pour l'ensemble des extraits. Ce pouvoir reste significativement inférieur à celui constaté avec les antioxydants de références (**voir le tableau N°03**). Ces derniers montrent une activité

antiradicalaire puissante appréciée par des CI50 de l'ordre de  $4,26 \pm 0,185 \mu\text{g/ml}$  et  $7,24 \pm 0,209 \mu\text{g/ml}$  pour l'acide gallique et acide ascorbique respectivement.



**Figure N°15 : Capacité de l'extrait éthanolique de *Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis L* à piéger le radical libre DPPH\* exprimée en CI50**

*Les valeurs représentées correspondent à la moyenne ± l'écart-type de trois essais indépendants*

(\*\*\*) : EET vs EES

Les résultats illustrés ci-dessus dans **la figure N°15**, indiquent que la capacité d'inhibition du radical libre d'extrait éthanolique de *Thymus ciliatus* est significativement supérieure en comparaison à celle de l'extrait éthanolique issu de *Salvia officinalis L* ( $62,262 \mu\text{g/ml} \pm 0,001$  versus  $149,15 \pm 0,003 \mu\text{g/ml}$ ). Cette différence est probablement liée à la teneur des composés phénoliques dans l'extrait éthanolique qui est corrélée à la capacité antiradicalaire.

L'activité antioxydante des extraits issus de notre étude s'avère différente à celles évoquées dans littérature. **Koksal et al. (2018)** rapportent que l'extrait éthanolique de *Thymus ciliatus* présente un pouvoir réducteur avec une concentration effectrice 50% de l'ordre de  $12,1 \mu\text{g/ml}$ . Ceci est révélée une activité antioxydante largement supérieure à celle présenté par nos extraits. Cependant nos CI50 sont inférieures à celles présentées par

**Oubihi** et ses collaborateurs, ces dernier démontrent que le *Thymus leptobotrys* possède une capacité de piéger le radical libre de l'ordre de 20,693µg /ml (**Oubihi et al., 2020**).

De plus, une étude réalisée par **Abdselam et** ses associés sur la capacité antioxydante de l'extrait éthanolique issu de *Salvia officinalis*, rapportent que le pouvoir d'inhibition de leur extrait à piéger le radical libre (DPPH\*), est évalué à 201 µg/ml. Cette capacité antioxydante est largement inférieure à celle évoquée au cours de cette présente étude CI 50 EES : 149.15 µg/ml. Cependant **Nouguia et al. (2012)** constatent une capacité de piégeage radicalaire de l'extrait éthanolique issu de *Salvia officinalis L* est supérieure à celle obtenue avec notre extrait, on note 149,15 µg/ml *versus* 90,16 µg/ml.

# *Conclusión*

Depuis la nuit des temps, les plantes médicinales représentent l'une des matières premières les plus précieuses et une source d'innovation inépuisable et irremplaçable. Vu leur richesse en molécules bioactives, elles constituent le mode de traitement le plus répandu dans le monde y compris dans les pays occidentaux.

L'objectif de ce présent travail s'intéresse à la capacité antioxydante des composés phénoliques de deux plantes médicinales issues de la région de Tiaret et largement utilisées dans la pharmacopée et la médecine traditionnelle. Durant notre étude et pour extraire les composés phénoliques, nous avons opté pour la méthode de macération et dans le but d'optimiser cette extraction, trois solvants différents ont été utilisés à savoir l'éthanol, le méthanol à 70% et l'eau distillée. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique enregistre le rendement le plus élevé, estimé à 12,23% et à 12,86 % pour le *Thymus ciliatus* et la *Salvia officinalis* L respectivement et ce en comparaison avec les extraits méthanolique et aqueux, ceci est confirmé par la quantification des composés phénoliques, l'extrait éthanolique est caractérisé par la grande teneur en polyphénols avec une valeur de  $394,155 \pm 0,869 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait pour le *Thymus ciliatus* et une teneur de  $150,63 \pm 6,5 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait pour la *Salvia officinalis* L. Parallèlement le dosage des flavonoïdes, indique des valeurs de l'ordre de  $99 \pm 1,41 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait et de  $51,76 \pm 4,1 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait éthanolique, respectivement pour les deux plantes citées précédemment. Aussi nos résultats dévoilent une forte relation entre les teneurs en composés phénoliques, essentiellement les flavonoïdes, et le pouvoir antioxydant ; ceci est reflété par le biais des CE50 déterminées par la technique FRAP et via les CI50 évaluées par la capacité de l'extrait à capter le radical libre DPPH•. Il en ressort que l'extrait éthanolique, l'extrait le plus riche en polyphénols, issus des deux plantes (*Thymus ciliatus* et *Salvia officinalis* L) exerce l'activité antioxydante la plus importante, on note une CE50 de  $242,25 \pm 0,35 \mu\text{g/ml}$ , et de  $775,65 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$  pour le *Thymus ciliatus* et la *Salvia officinalis* L respectivement. La même remarque demeure pour l'évaluation de l'activité de piégeage du radical libre. La CI50 DPPH• la plus forte est celle de l'extrait éthanolique issus de *Thymus ciliatus* et la *Salvia officinalis* L versus l'extrait méthanolique et aqueux. Les résultats du test de l'évaluation de la capacité de piégeage DPPH• indiquent des CI50 de l'ordre de  $62,26 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$  et de  $149,15 \pm 0,003 \mu\text{g/ml}$  pour les deux plantes. Toutefois et quel que soit le test utilisé (FRAP ou test du piégeage du radical DPPH•), les antioxydants standards, l'acide gallique et l'acide ascorbique, présentent une très forte capacité antioxydante en comparaison avec celle de

nos extraits : éthanolique, méthanoïque et aqueux. Dans la continuité de ce présent travail il est fort intéressant de développer les points suivants :

- ✓ Une optimisation de la méthode d'extraction en utilisant d'autres types de solvants et d'autres méthodes d'extraction comme par exemple la méthode de soxhlet, ou l'extraction par sonication ...etc.
- ✓ Un isolement et une identification des molécules bioactives responsables de l'activité antioxydante la plus puissante par des techniques chromatographiques et spectrales ;
- ✓ Un criblage basé sur l'évaluation d'autres activités biologiques comme : antimicrobienne ; antidiabétique ; anti-inflammatoire... etc
- ✓ Et enfin une réalisation d'une étude in vivo sur la prévention des pathologies à stress oxydatif contractées après une exposition chronique au polluants environnementaux, essentiellement les perturbateurs endocriniens.



*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

*A*

**Abdeslam ET –T., Hajiba F., Meryem M., Abdelhakim B., Nadia D., El Hassane A., Abederrahim S., Youssef B., (2016).** Screening of antioxidant, Antibacterial and Antileishmanial Activities of *Salvia Officinalis* L .Extracts from Morocco. *British Microbiology Research Journal*, 16(5), p 5

**Ait el cadi M., El Jouadi R., bouslimane Y., Bouklouze A., Cherrah Y., (2011).** les perturbateurs endocriniens : quel risqué pou la santé, *gynécologie endocrinologie* 13(2), p102

*B*

**Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J .,Cazin M., Cazin C., Pinkas M., (1996).**Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung* , 46, p1086-1089

**Bettaieb I., Hamrouni I., Bourgou S., Limam F., Marzouk., (2011)** .Drought effects on polyphénol composition and antioxidant activities in aerial part of *salvia officinalis* L.*Acta physiol plant* , 33 ,p1104

**Bendif H., Adouni K., Miara D., Baranauskiene R., kraujalis P., Venskutonis R., Nabavi M., Maggi F., (2018)** . Essential oil (Eos), pressurized liquid extracts (PLE) and carbon dioxide supercritical fluid extracts (SFE-CO<sub>2</sub>) from Algerien *Thymus munbyanus* as valuable source of antioxidants to be used on an industrial level. *Food chemistry*, 260 , p290

**Bendifallah L., Belguendouz R., Hamoudi L., Arab K., (2018)** Biological Activity of *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) Essential oil on varroa destructor infested honeybees .*Journal plants*

**Benkhara S., Bordjiba O., Djahra B.A., (2011)** . etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. *Revue Synthèse* , 23 , p73

**Blois M.S., (1958)** . Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 181, p1199-1200

**Bougandoura N., Bendimerad N., (2012).** évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta*(L) Briq. *Nature et technologie* 119 ,p

**Boizot N., Charpentier J. P., (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier Technique de l'Inra*, p79

### C

**Charlampos P., Komaitis M., (2007)** .Application of microwave – assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds . *Science direct* , 41 ,p652

**Chang C., Yang M., Wen H and Chern J., (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis*. 10, p 178-182

**Chevalier N., Fenichel P. (2017)** Perturbateurs endocriniens : responsabilités dans l'obésité et le diabète de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques*. Elsevier,11(4), pp : 341-346. doi :10.1016/S1957-2557(17)30078-0

**Christelle K., (2006).** Oxygene , stress oxydant et supplémentation antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires .*Science direct* ,20,p165-169

**Christian F., (2008).**La connaissance des Sauges ,p320, Edisud\_-ISBN 987-2-7449-0735-7, p 1-2 .

*D*

**Delphine R., Anne C., Pascale C.P., (2018).** Stress oxydatif chez les mammifères : effets sur la grossesse et la fonction placentaire ,de la conception à la naissance : le père et mère

**Dragan T. V., Ivana.T. K., Saša S.S., Miodrag L.L., Valentina D. M., Vlada B.V., (2011).** Comparaisin of antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from *Salvia glutinosa* L. and *Salvia Officinalis* L. Hem . Ind , 65(5), p 603

*E*

**Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefzadi M., (2008).**Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at diffrent phonological stages . Food chemistry, 110, P 927\_ 931

**Eberhard T., Robert A., Annelise L., (2005).** Plantes aromatiques, ISBN 2-7430-0720-6, p 475 \_

**Edeas M., (2005).** Les antioxydants dans la tourmente. Phytothérapie, 6, p 271

*F*

**Falleh H., Ksouri R., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L.organs , and their biological activities. Compt. Rend. Biol. 331,p 372-379.

**Favier A., (2003)** . le stress oxydant. L'actualité chimique , p110 – 111

**Favier A., (2006)** .stress oxydant et pathologie humaines .Ann pharm fr , 64 , p 391-393

**Fellhi S., Daoud A., Hajlaoui H., Mnafgu K., Gharsallah N., Kadri A., (2017).** Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles; antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits .Food Scienc and Technology ,37(3), p483- 492

**Fonny R., (2014).** Vers une valorization industrielle d'un remède traditionnel pour le traitement des intoxications ciguatériques. Thèse de doctorat de l'université de polynésie française, p 55



**Gaamoune S., Nouiou W., Khaled A., Ouffroukh A., (2015)** Antioxydant and antimicrobial activities of flavonoids extracted from thymus ciliatus . Scholars research library , 7(7) ,p358

**Gedikoğlu A., Sökmen M., Çivit A., (2019).** Evaluation of Thymus vulgaris and Thymbra spicata essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties, Food Science & Nuyrition, 7(5), p1704-1714

**Ghedira K., (2005)** les flavoniodes : Structure , propriétés biologiques , role prophylactique et emplois en thérapeutique ,pharmacognosie ,4 ,p162

**Ghorbani A., Esmailizadeh M., (2017)** .pharmacological propreties of Salvia officinalis and its components .journal of Traditional and Complementary Medcine, p 01-02

**Gilles J., (2017).** Synthèse de derives glycosidiques de type ursane et evaluation de leur cytotoxicité. Université du Québec à Chicoutimi, p05

**Gilles Nalbone., André Cicolella., Sylvie Laot-Cabon., (2013)** Perturbateurs endocriniens et maladies métaboliques : un défi majeur en santé publique in Santé Publique, 1 (25), pp : 45 à 49 éditeur S.FS.P

**Grujic N., Lepojevic Z., Srdjenovic B., Vladic J., (2012).** Effects of Different Extraction Methods and Conditions on the Phenolic Composition of Mate Tea Extracts .Molecules ;17 ,p2518\_2528

*H*

**Hadrich F., cherif S., Garbouni T., Sayari A., (2014).** Antioxidant and lipase inhibitory activities and Essential oil composition of pomegrante peel extract .Journal of Oleo Science, 63 (5) ,p515

**Haleng ., Pincemail J., Defraigne J .O., Chrlie C., Chapelle J.P., (2007 ).**Le stress oxydant .Rev Med Liege,10 ,P 628

**Hamoudi R., Dehak K., Tlili L., Khenfer S., Medjouel M., Mahfoud H., (2017)** .Biological activities of phenolic extracts of a medicinal plant , endemic to the algerian sahara : Salvia Chudaei Batt .international journal of biosciences ,11 ,p109-111

**Hayouni E.A., Abedrabba M., HamdiM., (2007).**The effects of solvents and extraction method on the phenolics contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccofera L. and Juniperus phoenicea L. Fruit extracts .Food Chemistry , 105,p 1126\_ 1134

**Hebi M., Eddouks M., (2015)** Evaluation de l'Activité antioxydante de stevia reaudiana .phytothérapie, 14, p21

**Hosseinzadeh S., Jafarikukhdan A., Hossein A., Armand R (2015 )** L'application des plantes médicinales en médecine traditionnelle et moderne : un examen de thymus vulgaris .International journal of clinical medicine ,06 , p04

*I*

**Ivan A., David V. B., Roumiana P.S., Guillermo R., Elena I., Tiziana F.,(2013).**Extraction of Thymol from different varieties of Thyme plants using green solvents . Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids, Cartagena de Indias ( Colombia ) , p04

*K*

**Koksal E., Bursal E., Gulcin I., Korkmaz M., Caglayan C., Ahmet C., Saleh H (2017).** Antioxydant activity and polyphenol content of Turkish Thyme ( thymus Vulgaris ) monitored by liquid chromatography and tande mass spectrometry . International journal of food properties ,20 , p516 –521

**Kemassi A., Darem S., Cherif R., Bouali Z., Sadine S., Aggoune M., Ould el hadj K., Ouldelhadj M., (2014).**Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab(Sahara septentrional Est Algérien ).Journal of Advnced Research in science and technology ,1(1), p02

**Kholkhal f., (2014).** Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composes phénoliques de thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid

*L*

**Lee K.W., KimY.J., Lee H.J., et Lee C.Y., (2003) .** Cacao has more phenolic phytochemicals and higer antioxidant capacity than teas and red wine. Food chemistry , 51 : p729267295

**Lumbu S., Kahumba B., Kahambwe T., Mbayo T., Kalonda M., Mwamba M., Penge O., (2005).** Contribution à l'étude de quelques plantes médicinales anti diarrhéiques

en usage dans la ville de Lubumbashi et ses environs. *Annales de Pharmacie*, 3 (1), p 75-86

*M*

**Mahmoudi S., khali M., Mahmoudi N., (2013)** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L). *Nature et technologie* , 9 ,p 35-36

**Miliauskas G., Venskutonis P.R., et Van beek T.A., (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry* ,85, p231-237

**Mioara p., Ana- M.B., Mihaela D., Daniela B., (2021).** Chemical profiling of polyphenols from *Salvia Officinalis* L and *Thymus Serpyllum* extracts during a three – stage extraction process. Dept .of Inorganic Chemistry, physical chemistry and Electrochemistry , 83 , p 7- 8

**Miraj S., Kiani S., (2016).**A review study of therapeutic effects of *Salvia officinalis* L .  
*Scolars research library* , 8(6) ,p300

**Mohamed A., Hamzawy S., Ezzeldein M., El Deshary N., Fathia M., Mosaad A., Abdel W., (2012).**Antioxidant and Hepatorenoprotective Effects of *Thyme vulgaris* Extract in Rats during Aftaxicosis . *Global journal of pharmacology* 6(2), p 109

*N*

**Nagwa M. R., Amal A., Hassan M., Foda and Marza M . El-Moghazy .,(2012).** Assesment of the Antioxidant Activity of sage (*Salvia Officinalis* L ) Extracts on the Shelf Life of Mayonnaise . *World Journal of Dairy & Food Sciences* ,7(1) , p 31 -33

**Neagu E., Roman G., Radu L., (2011)** . Antioxidant Capacity of some *Salvia Officinalis* concentrated extracts .*Acadimia Romana* ,56(7) ,p778



*O*

**Oubihi A., Hosni H ., Nounah I., Ettouil A., Harhar H ., Alaoui k., Ouhssine M., Guessous Z (2020)** Phenolic content , Antioxidant Activity , Anti-inflammatorys Murb . Extracts .Biochemistry research international ,15 ,p04

**Oyaizu M., (1986).** Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine.Japanese Journal of Nutrition, 44, p307–315

*P*

**Petrova M., Nikolova M., Dimitrova L., Zayouva E., (2015) .** Micropropagation and evaluation of flavoniod content and antioxidant activity of *Salvia officinalis* L.Genetics and plant physiology ,5(1) ,p49

*R*

**Rochette L., (2008).**Stress oxydant et Sepis .Science direct , 3 ,p01

**Ryszard A., Zofia Z., Ryszard R., Ronald B., Pegg M. K., Agnieszka K., (2008).** Antioxidant activity and free radical -scavenging capacity of ethanolic extracts of thyme , Oregano ,and marjoram. Eur .J.Lipid Sci .Technol , 111, p1113

*S*

**Satyajit D .S ., Zahid L., Alexander L.G., (2006).**Natural products isolation ,Methods In Biothechnology, 20 , p328-329

**Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A., Saura-Calixto F., (1998).** A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76 (2), p 270-276

**Silva B. N., Cadavez ., Ferreira-Santus P., Teixeira A.J., Gonzales –Barrun ., (2020).** L'extraction , chemical characterization , and antioxidant Activity of bioactive plant letracts , proceedings , 70 , 62 ,p4

**Soorni A ., Borna T ., Alemardan A., Chakrabarti M., Hunt G., Bombarely A., (2019).** Transcriptome landscape variation in the Genus *Thymus* .journal genes ,10 ,p01

### T

**Tamert A., Latreche L., Aouad L., (2017).** Criblage phytochimique et activité antimicrobienne des extraits de *Thymus Serpyllum* et de *Thymus vulgaris* du mont de tessala (Algerie occidentale ) .Phytothérapie , 15 ,p 378

### Y

**Yan S. W., Asmah R., (2010).** Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of turmeric leaf, pandan leaf and torch ginger flower. *International Food Research Journal*, 17(2),p 417–423

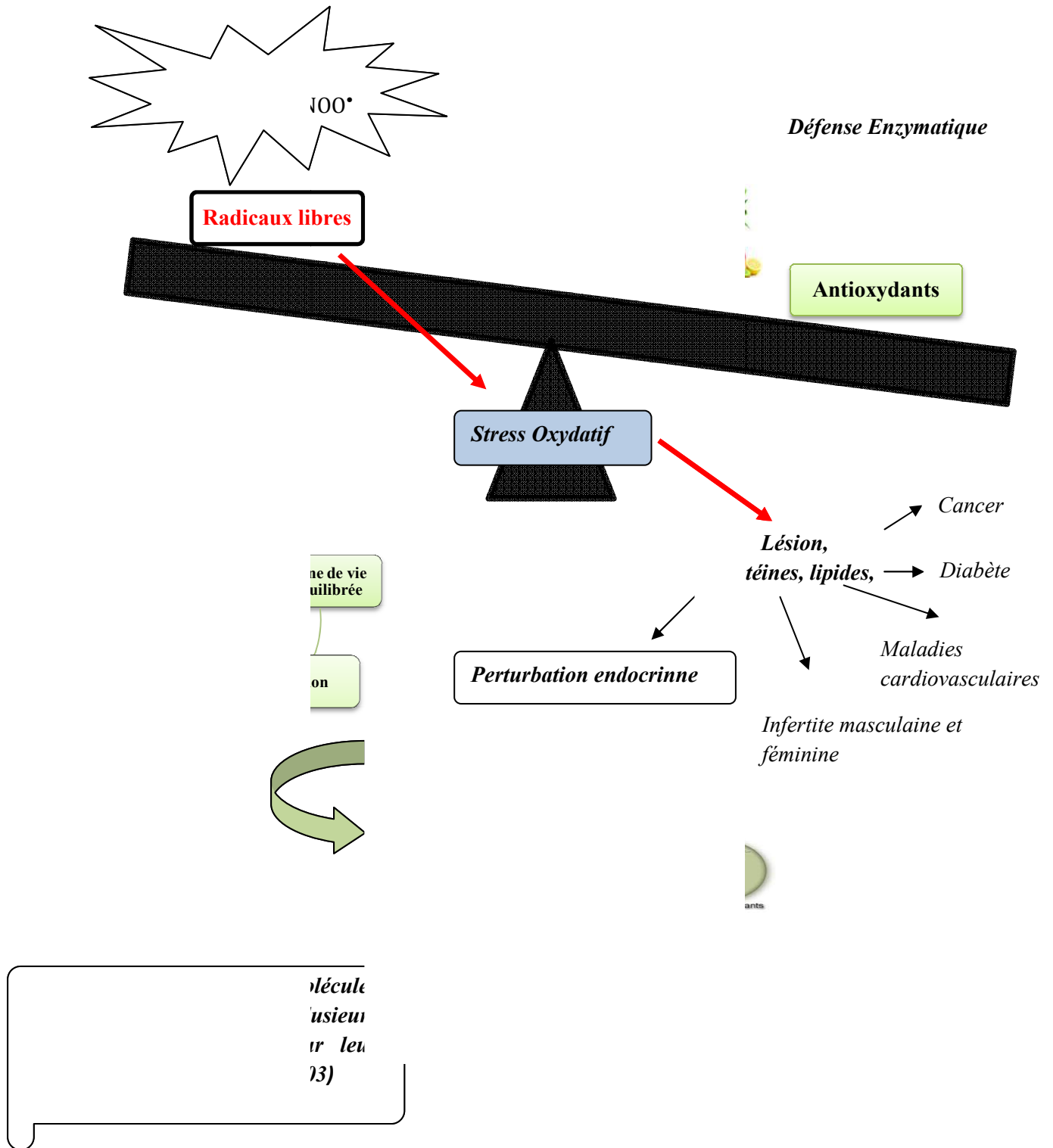
### Z

**Zbadi R., Mohti H., Moussaoui F., (2018).** stress oxydatif : évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales . *Medicine therapeutique* , 24,

# *Annexe*

# ANNEXE I

## Annexe I. Sources et conséquences de stress oxydatif



## ANNEXE II

### *Annexe II. Description, caractéristiques, classification du Thymus ciliatus*

#### *1. Description botanique de Thymus ciliatus :*

Sous arbrisseau touffu et dressé, pouvant atteindre 40 cm de hauteur, atiges fortement ramifiées, ligneuses et toutueuses à la base .les rameaux blanchâtres car courtement velus, portent les feuilles persistantes, de petite taille, opposées, lancéolées ou linéaires à limbe entier , elles sont susceptibles et de couleur vert grisâtre. (Eberhard *et al.* , 2005)

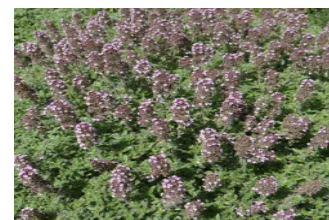
#### *2. Caractéristiques :*

<i>Couleur fleur</i>	<i>Rose</i>
<i>Couleur feuillage</i>	<i>Gris _ argent</i>
<i>Hauteur</i>	<i>10cm</i>
<i>Feuillaison</i>	<i>Janvier, Décembre</i>
<i>Floraison (s)</i>	<i>Avril _ juin</i>
<i>Type de feuillage</i>	<i>Persistant</i>
<i>Exposition</i>	<i>Soleil</i>
<i>Type de sol</i>	<i>Sec</i>
<i>Silhouette</i>	<i>Tapissante couvre _ sol</i>
<i>Densité</i>	<i>6 au m<sup>2</sup></i>

*Latin : Thym, Thymus*

*Anglais : Thyme*

*Arabe : Zaatar زعتر*



*Photo N01. Thymus Ciliatus*

#### *3. Classification phylogénétique du Thymus Ciliatus: (Kholkhale, 2014)*

<i>Règne</i>	<i>Plantae</i>	<i>Ordre</i>	<i>Lamiales</i>
<i>Division</i>	<i>Magnoliophyta</i>	<i>Famille</i>	<i>Lamiaceae</i>
<i>Classe</i>	<i>Dicotylédones</i>	<i>Genre</i>	<i>Thymus</i>
<i>Sous Classe</i>	<i>Asterdae</i>	<i>Espèce</i>	<i>Thymus ciliatus</i>

## ANNEXE III

### Annexe III. Description, caractéristiques, classification du *Salvia officinalis* L :

#### 1. Description botanique :

Sous arbrisseau buissonnant et persistant, formant une touffe ligneuse pouvant atteindre jusqu'à 80 cm de haut, et dont les tiges émettent de nombreux rameau dressés quadrangulaires et laineux, présentant des nœuds saillants sur lesquels sont insérées les feuilles. (Eberhard et al., 2005). Ses fleurs, sont de couleurs rose bleuté, sont regroupées à la base des feuilles. (Mahboubi, 2014)

#### 2. Caractéristiques :

<b>Couleur fleur</b>	<b>Bleu violet</b>
<b>Couleur feuillage</b>	<b>Vert grisâtres</b>
<b>Hauteur</b>	<b>40 à 60 cm</b>
<b>Origine</b>	<b>Bassin Méditerranéen</b>
<b>Floraison (s)</b>	<b>Epis de petites fleurs au printemps et on été</b>
<b>Type de feuillage</b>	<b>Persistantes duveteuses</b>
<b>Exposition</b>	<b>Ensoleillée et chaude</b>
<b>Type de sol</b>	<b>Humifère, souple</b>
<b>Multiplication</b>	<b>Semis bouturage et division</b>
<b>Espacement</b>	<b>30 à 40 cm</b>

**Terme Scientifique : *Salvia officinalis***

**Latin : *Sauge officinale***

**Anglais : *Sage, salvia***

**Arabe : *Salmiya* (السالمية)  
(سواك النبي), (الميريمية)**

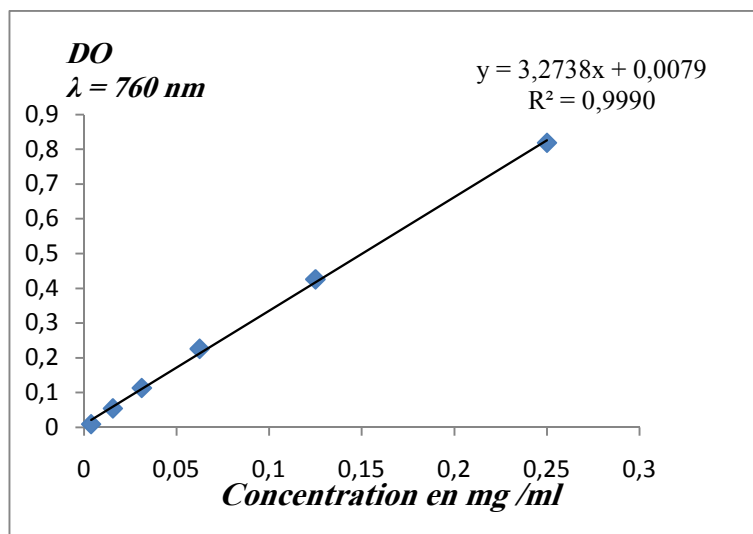


**Photo N02. *Salvia Officinalis* L**

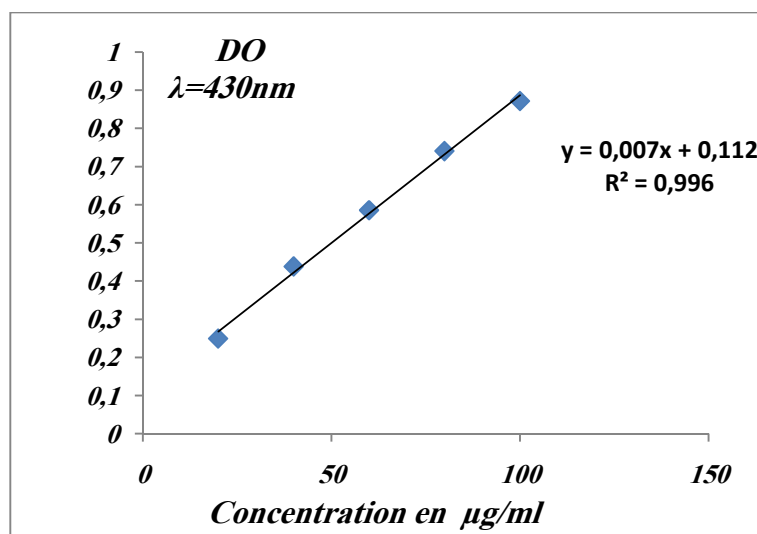
#### 3. Classification phylogénétique du *Salvia officinalis* L :( Christian F, 2008)

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>	<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>Division</b>	<b>Magnoliophyta</b>	<b>Famille</b>	<b>Lamiaceae</b>
<b>Classe</b>	<b>Magnoliopsida</b>	<b>Genre</b>	<b>Salvia</b>
<b>Sous Classe</b>	<b>Astéridéés</b>	<b>Espèce</b>	<b>Salvia Officinalis L</b>

*Annexe IV. Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.*



*Figure N°01. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique de polyphénols exprimée en mg/ml*



*Figure N°02. Courbe d'étalonnage de la quercétine de flavonoïdes exprimée en µg/ml*

## Annexe V. Courbes d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydante

### 1. Courbes de la régression linéaire utilisées dans l'évaluation de la CE50 par la méthode de FRAP

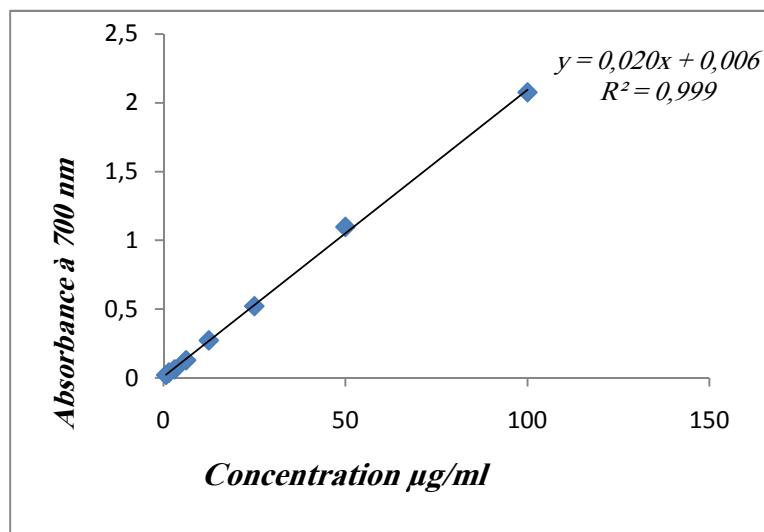


Figure N°03 : Courbes de la régression linéaire de l'évaluation de la CE50 de l'acide gallique

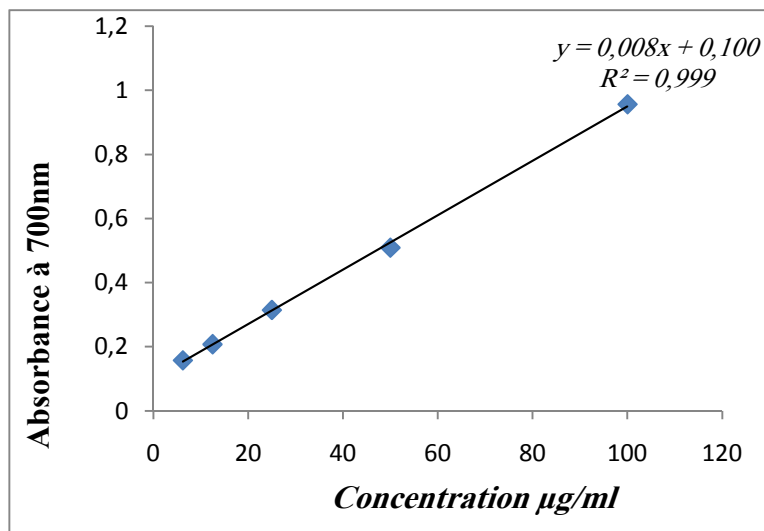
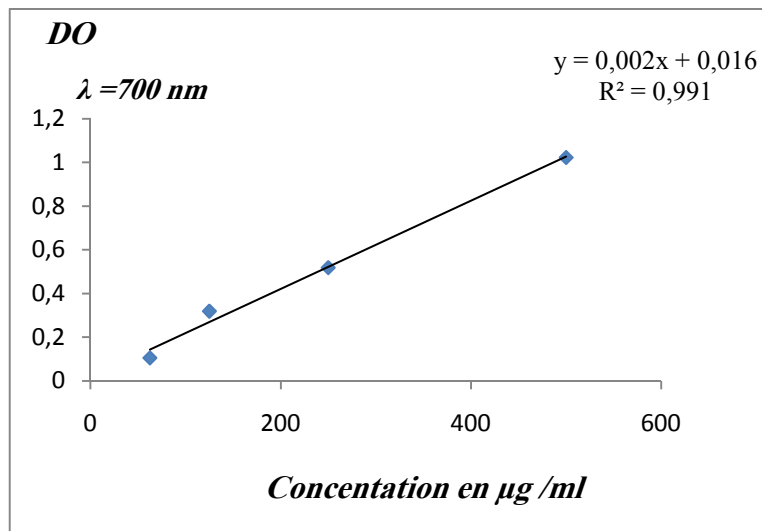
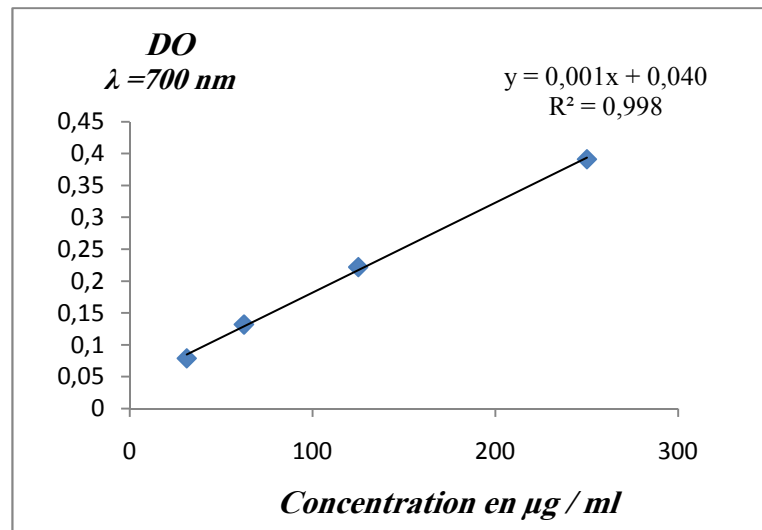


Figure N°04. Courbe de l'évaluation de la CE50 de la vitamine C

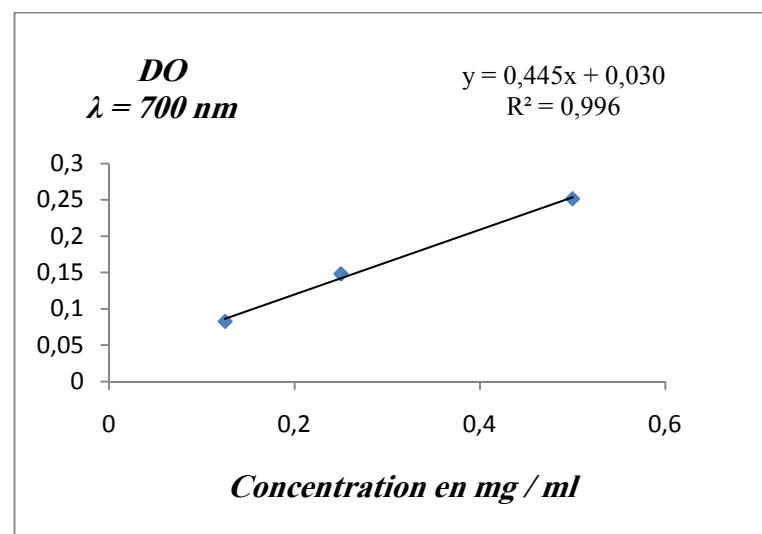




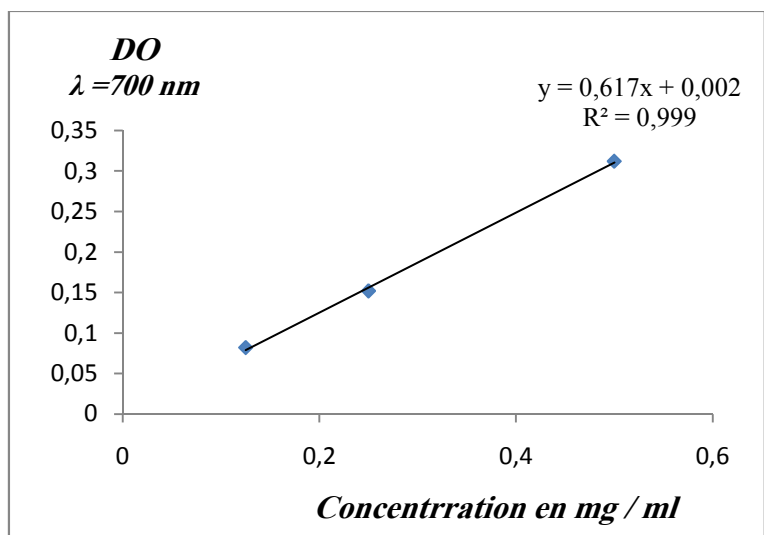
**Figure 05. Courbe de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE50 de l'EET**



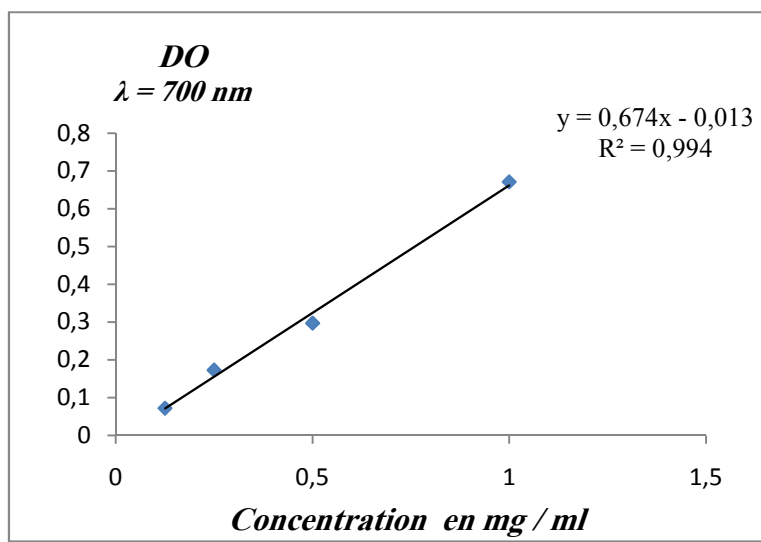
**Figure 06. Courbe de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE50 de l'EMT**



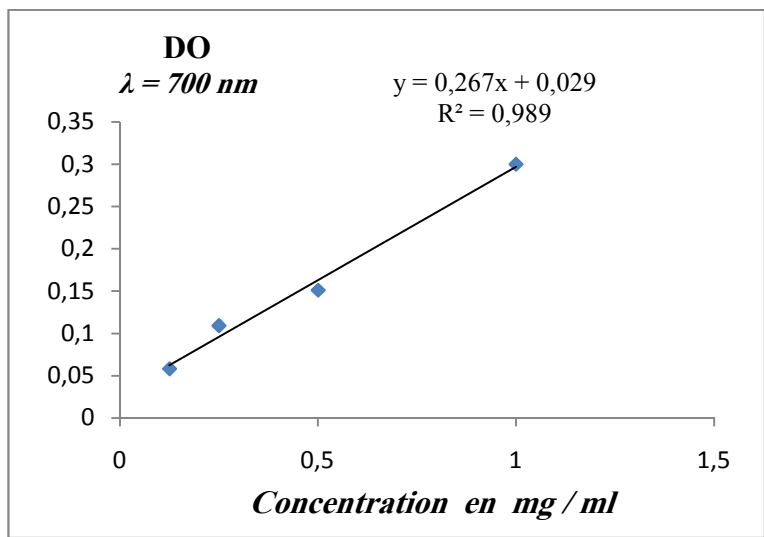
**Figure 07. Courbe de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE50 de l'EAT**



**Figure 08. Courbe de la régression linéaire utilisée pour l'évaluation de la CE50 de l'EES**



**Figure 09. Courbe de la régression linéaire utilisée dans l'évaluation de la CE50 de l'EMS.**



**Figure N°10. Courbe de la régression linéaire utilisée dans l'évaluation de la CE50 de l'EAS.**

2. Courbes Hyperboliques utilisées dans l'évaluation de la CI50 par le test de DPPH\*

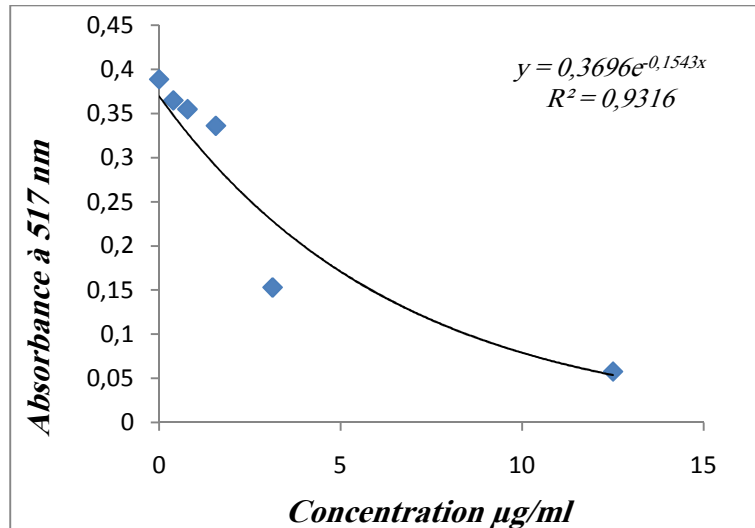


Figure N°11. Courbe hyperbolique de l'évaluation de la CI50 de l'acide gallique

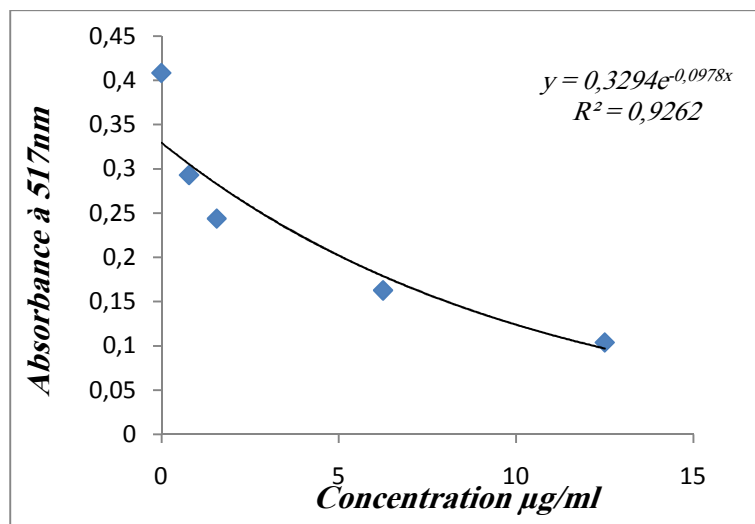
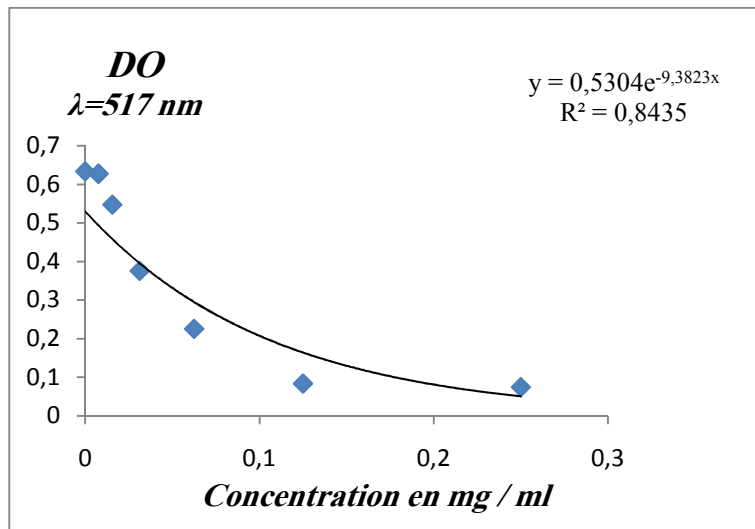
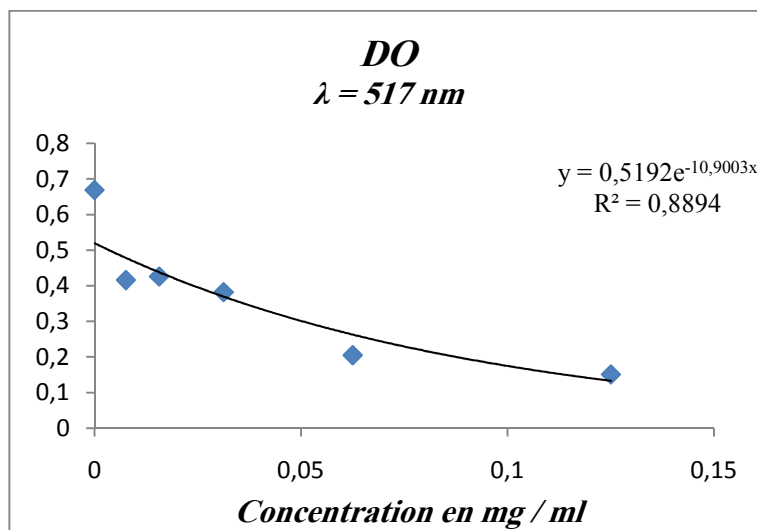


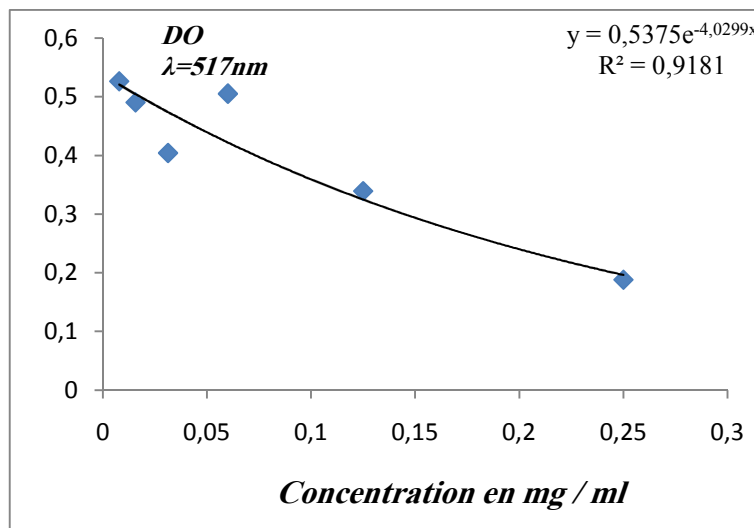
Figure N°12. Courbe hyperbolique de l'évaluation de la CI50 de la vitamine C



**Figure N°13 .Courbe hyperbolique utilisée dans l'évaluation de la CI50 de l'EMT**



**Figure N°14 .Courbe hyperbolique utilisée dans l'évaluation de la CI50 de l'EAT**



**Figure N°15 .Courbe hyperbolique utilisée dans l'évaluation de la CI50 de l'EAT**

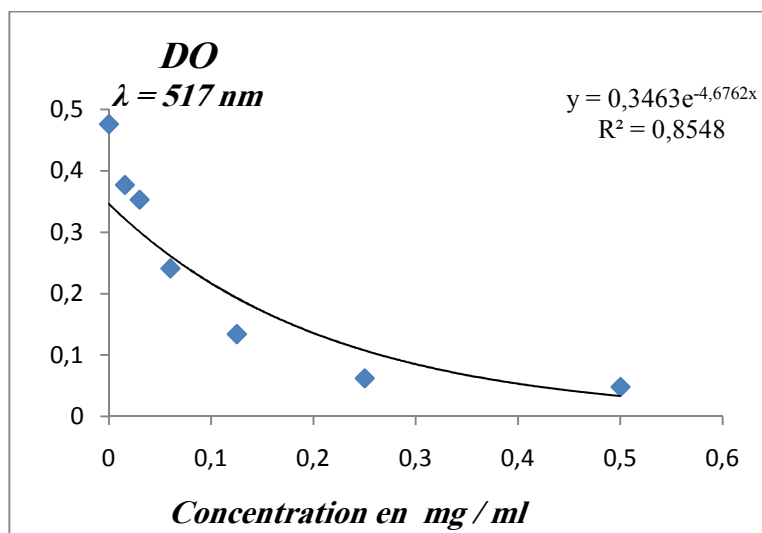


Figure N°16 . Courbe hyperbolique utilisée dans l'évaluation de la CI50 de l'EES

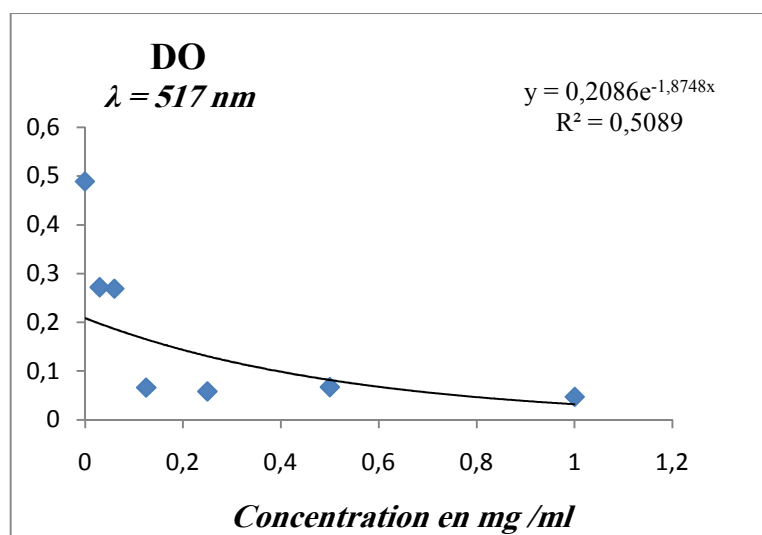


Figure N°17 . Courbe hyperbolique utilisée dans l'évaluation de la CI50 de l'EMS.

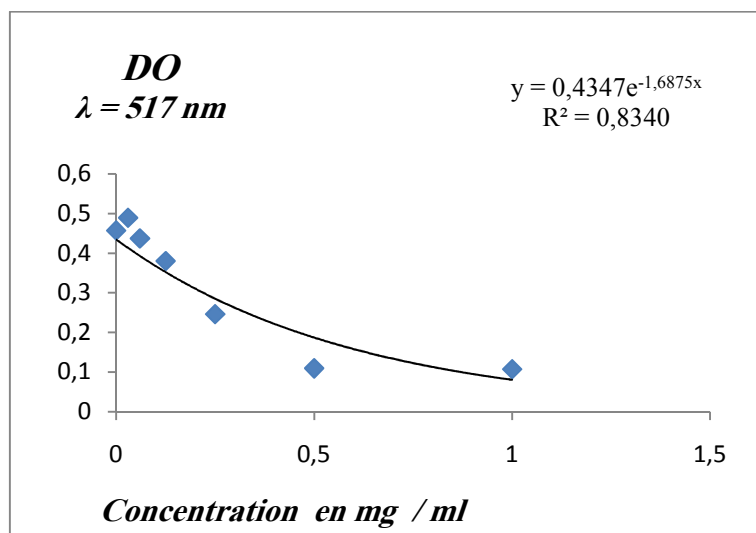


Figure N°18 . Courbe hyperbolique utilisée dans l'évaluation de la CI50 de l'EAS

*Annexe IV. Résultats numériques**Tableau N°01. Rendement d'extraction de Thymus ciliatus par la technique de macération*

<i>Extraits</i>	<i>Rendement massique %( m / m )</i>
<i>EET</i>	<i>12,23%</i>
<i>EMT</i>	<i>11,53%</i>
<i>EAT</i>	<i>10,24%</i>

*Tableau N°02. Rendement d'extraction de Salvia officinalis L par la technique de macération*

<i>Extraits</i>	<i>Rendement massique %( m / m )</i>
<i>EES</i>	<i>12,86%</i>
<i>EMS</i>	<i>09,74%</i>
<i>EAS</i>	<i>10,50%</i>

*Tableau N°03. Teneur en composés phénoliques et de flavonoïdes de Thymus ciliatus*

<i>Extraits</i>	<i>Teneur en polyphénols totaux (µg EAG / mg d'extrait)</i>	<i>Teneur en flavonoïdes (µg EQ / mg d'extrait)</i>
<i>EET</i>	<i>394,155 ± 0,869</i>	<i>99 ± 1,414</i>
<i>EMT</i>	<i>350,17 ± 6,052</i>	<i>50,335 ± 0,091</i>
<i>EAT</i>	<i>128,315 ± 3,457</i>	<i>17,475 ± 0,275</i>

*Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type de trois essais indépendants.*

*Tableau N°04. Teneur en composés phénoliques et de flavonoïdes de Salvia officinalis L*

<i>Extraits</i>	<i>Teneur en polyphénols totaux (µg EAG / mg d'extrait)</i>	<i>Teneur en flavonoïdes (µg EQ / mg d'extrait)</i>
<i>EES</i>	<i>150,63 ± 6,5053</i>	<i>51,765 ± 4,122</i>
<i>EMS</i>	<i>119,625 ± 0,629</i>	<i>20,820 ± 0,877</i>
<i>EAS</i>	<i>64,603 ± 0,561</i>	<i>15,103 ± 1,423</i>

*Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type de trois essais indépendants.*

## ANNEXE VI

*Tableau N°05. Activité antioxydante des extraits de Thymus ciliatus par le test de réduction de fer FRAP et le test de piégeage du radical libre DPPH\* exprimée en µg/ml*

<i>Extraits</i>	<i>CE50 (µg / ml)</i>	<i>CI50 (µg / ml)</i>
<i>EET</i>	<i>242,25 ± 0,3535</i>	<i>62,2622 ± 0,0011</i>
<i>EMT</i>	<i>479 ± 5,656</i>	<i>72,7254 ± 0,0008</i>
<i>EAT</i>	<i>907,151 ± 2,614</i>	<i>174,456 ± 0,005</i>

*Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type de trois essais indépendants.*

*Tableau N°06. Activité antioxydante des extraits de Salvia officinalis L par le test de réduction du fer FRAP et le test de piégeage du radical libre DPPH\* exprimée en µg / ml*

<i>Extraits</i>	<i>CE50 (µg / ml)</i>	<i>CI 50 (µg / ml)</i>
<i>EES</i>	<i>775,65 ± 0,002</i>	<i>149,15 ± 0,003</i>
<i>EMS</i>	<i>830, 15 ± 0,004</i>	<i>367,6 ± 0,0012</i>
<i>EAS</i>	<i>1704,8 ± 0,00445</i>	<i>425,2 ± 0,025</i>

*Chaque valeur représente la moyenne ± écart-type de trois essais indépendants.*

*Tableau N° 07. Activité antioxydante des standards (acide gallique et l'acide ascorbique) exprimée en µg / ml*

<i>Standard</i>	<i>CE50 (µg/ml)</i>	<i>CI50 (µg / ml)</i>
<i>Acide Gallique</i>	<i>28,77 ± 1,005</i>	<i>1,34 ± 0,27</i>
<i>Vit C</i>	<i>50 ± 0,006</i>	<i>4,33 ± 0,48</i>

*Chaque valeur représente la moyenne ± de trois essais pour (FRAP) et deux essais pour (DPPH\* ) indépendants.*

## RESUME

Cette présente étude s'intéresse à l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques issus de deux plantes médicinales (*Thymus ciliatus*, *Salvia officinalis* L) caractéristiques de la région de Tiaret. Ces dernières appartiennent à famille de Lamiacea et sont reconnues pour leurs vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle et surtout pour leurs bienfaits sur la santé de la femme. L'objectif de cette présente étude est d'extraire les composés phénoliques par la méthode de macération en utilisant trois solvants différents et ce dans le but d'évaluer leur pouvoir antioxydant. Le rendement des extraits bruts (extrait éthanolique, extrait méthanolique et aqueux) pour le *Thymus ciliatus* est dans l'ordre : 12,23%, 11,53%, et 10,24%, on note 12,86%, 9,74%, et 10,50% pour la *Salvia officinalis* L. L'analyse spectrophotométrique de ces extraits révèle une forte teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, les résultats indiquent que l'extrait éthanolique est caractérisé par la teneur significativement la plus élevée en polyphénols et en flavonoïdes avec un taux de polyphénols évalué à 394,155 µg EAG/ mg d'extrait et de flavonoïdes évalué à 99µg EQ/mg d'extrait de pour le *Thymus ciliatus*, cependant pour *Salvia officinalis* L, on distingue une quantité de polyphénol évaluée à 150,63±6,5 µg EAG/mg d'extrait et de flavonoïdes à 51,76 ±4,1µg EQ/mg d'extrait. L'activité antioxydante a été étudiée avec deux méthodes différentes à savoir le test de réduction du fer « FRAP » et le test de piégeage du radical libre DPPH\*. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait éthanolique possède une bonne activité antioxydante pour le *Thymus ciliatus* contrairement à la *Salvia officinalis* L avec une CE50 de 242,25±0,35µg/ml et une CI50 de 62,26±0,01µg/ml versus une CE50de 775,65±0,002µg/ml et une CI50 de 149±0,003 µg/ml de manière respective.

**Mots clés :** *Thymus ciliatus*, *Salvia officinalis* L, composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante, plantes médicinales.

## المخلص

تركز عملنا على دراسة تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمركبات الفينولية لعشبتى الزعتر والميريمية في منطقة تيارت. باعتبارهما من عائلة الأذينات ويتم استخدامهما لقدرتهما العلاجية في الطب التقليدي وخاصة بالنسبة لصحة المرأة. الهدف من هذه الدراسة هو استخلاص هذه المركبات بواسطة النقع باستخدام ثلاثة مذيبات مختلفة بهدف تقييم قوتها المضادة للأكسدة حيث بينت نتائج مردود المستخلصات الخامة (المستخلص الايثانولي. المستخلص الميثانولي والمستخلص المائي) مرتبة كالاتي : 12.23% ، 11.53% ، 10.24% بالنسبة لنبتة الزعتر أما الميريمية فهي على الترتيب الاتي : 12.86% ، 9.74% ، 10.50% . أظهر تحليل هذه المستخلصات وجود بعض المجموعات الكيميائية (البوليفينول الكلي و الفلافونويد) والتي تم تحديدها بالطرق الطيفية ، وأظهرت النتائج أن المستخلص الايثانولي يتميز بأعلى محتوى من البوليفينول والفلافونويد بمستوى 394.155 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك و 99ميكروغرام مكافئ الكارستين بالنسبة للزعتر على التوالي . أما الميريمية بمستوى يقدر ب 150.63مكغ مكافئ حمض الغاليك و 51.76 مكغ مكافئ الكارستين على التوالي أيضا . تمت دراسة نشاط مضادات الأكسدة بطريقتين مختلفتين هما : اختبار القدرة الأرجاعية واختبار قدرة محاصرة الجذر الحر والتي أشارت الى أن المستخلص الايثانولي له فعالية عالية مضادة للأكسدة بالنسبة للزعتر على عكس الميريمية بتركيز 242.25 مكغ /مل ، 62.26 مكغ /مل و بتركيز 775.65مكغ /مل ، 149.0003مكغ /مل على التوالي .

**الكلمات المفتاحية :** الزعتر ، الميريمية ، المركبات الفينولية ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة .