



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

MÉMOIRE DE MASTER

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

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Amani BOULEGROUN et Roumila ARDJOUN

Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

Evaluation de l'effet antioxydant de deux plantes endémiques en Algérie : *Thymus algeriensis* de Ain-Defla et *Lavandula antineae* de Biskra

Jury :

M.	Samir ZEROUAL	MCB	Université de Biskra	Président
Mlle.	Fatima Zohra BENABDALLAH	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
M.	Redouane REBAI	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

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

*Nous voudrions témoigner de nos remerciements et nos gratitude à nous promotrice **Mlle. BEN ABDALLAH Fatima Zohra**, pour la confiance qu'il nous a accordée, son assistance, sa disponibilité, sa compréhension et ses conseils qui m'ont beaucoup aidé à réaliser ce travail.*

Nous exprimons notre très grande considération, et notre profond respect à tous les enseignants de la promotion master, 2018-2019 qu'ils trouvent ici le témoignage de notre sincère reconnaissance, pour leurs apports très constructifs.

*Nous exprimons nos sincères gratitude, à **ZEROUAL. S** pour l'honneur qu'elle fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements à l'égard de **REBAI. R** qui nous ont fait l'honneur d'examiné ce travail.*

*Nous voudrions ensuite exprimer toutes gratitude et reconnaissances à notre enseignantes **Mme. BENGUERAICHI Fatiha**.*

Nous n'oublions pas de remercier vivement Ms. Youssef et les enseignants Ms. Charfaoui et Ms. Derradji pour leur aide et soutien moral.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les membres du laboratoire bedagogique de département SNV pour leurs conseils et leurs orientations.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à

**Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.*

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions je dédie ce travail :

Ma très chère mère « **Souad » tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

A mon cher père « **Badredine » rien ne peut exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

A mon très belle famille « **Mani » que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour sa patience illimitée leur encouragement continu, son aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour sa grand sacrifice.*

A mes chers sœurs **Manar, Soundes, mes petite sœur **Maria** et A mes chers frère **Hatem** et mon cousin **Sameh**.*

A ma chère sœur en dieu et ma fidèle amie **Rania*

A toutes mes amis, Surtout mes meilleurs amis et soeurs en Dieu **Roumila, Aicha, Meriem et **khadidja***

A ma chers tante **Samira et son mari **Youssef** et A tous ma belle familles*

*«**Amani**»*

Dédicace

*Je dédie ce mémoire à mon dieu **ALLAH** pour ma donnée la
patience et le courage*

*•A mes très chers parents "**Ali & Leila**"*

Que le tout puissant les protège

*•A mes chers frères **Abd el basset** et sa femme **Achoura***

*•**Abd elssatar** et sa femme **Nour elhouda***

*Et mon cher frère **MINOU***

*•A ma jolie sœur **Amina** et son mari **Antar***

*•A mes aimables petites nièces: **Hidaya, Mouad, Hachani, Rassil,***

Roudaina et Chifaa

*•A ma binôme **Amani** ainsi à toute sa famille*

•A ma chère cousines, tantes, oncles, et à toute ma famille

*•A mes fidèles amis : **Aicha, Rania, Itham, Roumaissa, Khawla,***

Yousra, Amani, Khouloud, Meriem, Ibtissam, Salima, Safa, Ikram,

Asma, Nour, Hana, Zaineb, Rbaiha, Noussaiba

*•A mes sœurs : **Sallomi, Noussa, Hana, Yasmin, Maroua,***

*•À tous mes professeurs du la primaire jusqu'à l'université pour m'voire
fourni les outils nécessaire à la réussite de mes études*

*•À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou
indirectement, à la réalisation de ce travail*

•À tous ceux qui aiment la science

"Roumíla"

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abreviations	III
Introduction	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 Généralités sur les plantes étudiées

1.1. Définition des plantes médicinales.....	3
1.2. Présentation de la plante <i>Lavandula antineae</i>	3
1.2.1. Descriptions botanique.....	3
1.2.1.1. Distribution géographique.....	3
1.2.1.2. Classification.....	3
1.2.1.3. Caractéristiques	4
1.2.2. Utilisation.....	4
1.3. Présentation de la plante <i>Thymus algeriensis</i>	4
1.3.1. Descriptions botanique.....	5
1.3.1.1. Distribution géographique.....	5
1.3.1.2. Classification.....	5
1.3.1.3. Caractéristiques	5
1.3.2. Utilisation.....	6

Chapitre 2 Métabolites secondaires

2.1. Généralité	7
2.1.1. Les polyphénols	7
2.1.2. Classification des polyphénols	7
2.1.2.1. Acide phénolique simple.....	7
2.1.2.2. Les flavonoïdes	7
2.1.2.3. Les tanins	8

Chapitre 3 Activité antioxydante

3.1. Généralités.....	9
3.2. Stress oxydatif	9
3.4. Les radicaux libres	9
3.5. Différents formes des radicaux libres.....	9
3.5. Les antioxydants.....	10

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 4 Matériel et méthodes

4.1. Matériel	11
4.1.1 Matériel Végétal.....	11
4.1.1.1. Récolte des plantes étudiées	11
4.2. Méthodes	11
4.2.1. Extraction	11
4.2.1.1. Préparation des extraits hydro-alcooliques (méthanoliques)	11
4.2.1.2. Fractionnement de l'extrait brut.....	12
4.2.2. Détermination du rendements des extraits secs	15
4.2.3. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux	15
4.2.3.1. Dosages des composés phénoliques	15
4.2.3.2. Dosages des flavonoïdes	16
4.2.5 Mis en évidence de l'activité antioxydante	17
4.2.5.1. Etude de pouvoir réducteur du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil). 17	
4.2.5.2. Détermination du pouvoir réducteur du fer : FRAP (Ferric reducing antioxydant power).....	19
4.2.5.3. Activité antioxydante totale (TAC).....	20
4.3. Analyse statistique.....	21

Chapitre 5 Résultats et discussion

5.1. Le rendement d'extraction	22
5.2. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes.....	24
5.2.1. Teneurs en Polyphénols totaux	24
5.3. Teneur en flavonoïde.....	27
5.4. Résultats des activités antioxydantes	29
5.4.1. Etude de pouvoir réducteur du radical DPPH	29
5.4.2. Détermination du pouvoir réducteur du fer (FRAP)	33
5.5. Activité antioxydante totale (TAC).....	36
Conclusion.....	39
Annexes.....	48

Liste des Tableaux

Tableau 1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	10
Tableau 2. Les espèces réactives de l'azote (ERA)	10
Tableau 3. Résultats des couleurs des aspects et des extraits des deux plantes	22
Tableau 4. Résultats du dosage des polyphénols (mg EAG/g d'extrait sec) des différents extraits des deux plantes.....	26
Tableau 5. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux de différents extraits de deux plantes	28

Liste des Figures

Figure 1. Classification botanique de <i>Lavandula antineae</i>	4
Figure 2. <i>Thymus algeriensis</i>	5
Figure 3. Structure générale de l'acide benzoïque (A) et de l'acide cinnamique (B)	7
Figure 4. Structure générale du noyau des flavonoïdes	8
Figure 5. Structure générale du tanin condensé (a) et tanin hydrolysable (b).....	8
Figure 6. Protocole de l'extraction hydro-alcoolique	12
Figure 7. Protocole de fractionnement	14
Figure 8. Protocole du dosage des polyphénols	16
Figure 9. Protocole de dosage des flavonoïdes	17
Figure 10. Protocole du test de piégeage du radical DPPH.....	18
Figure 11. Protocole d'étude de pouvoir réducteur FRAP	20
Figure 12. Protocole d'étude de test TAC	21
Figure 13. Rendements des différents extraits des deux plantes et <i>Lavandula antineae</i> <i>Thymus algeriensis</i>	23
Figure 14. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	25
Figure 15. Courbe d'étalonnage de la quercétine	27
Figure 16. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de BHA	30
Figure 17. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de BHT	30
Figure 18. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des extraits de <i>L. antineae</i>	30
Figure 19. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des extraits de <i>T. algeriensis</i>	31
Figure 20. IC ₅₀ des extraits des deux plantes du test de piégeage du radical DPPH.....	32
Figure 21. Pouvoir réducteur des différents extraits de <i>L. antineae</i>	34
Figure 22. Pouvoir réducteur des différents extraits de <i>T. algeriensis</i>	34
Figure 23. Pouvoir réducteur des différents extraits des deux plantes.....	35
Figure 24. La capacité antioxydante totale des différents extraits de <i>L. antineae</i>	37
Figure 25. La capacité antioxydante totale des différents extraits de <i>T. algeriensis</i>	37
Figure 26. La capacité antioxydante totale des différents extraits des deux plantes.....	38

Liste des abréviations

A : absorbance.

AAR% : pourcentage de l'activité antiradicalaire.

BHA : hydroxyanisole butylé.

BHT: butylhydroxy toluène.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAcOEt : extraits acétate d'éthyle.

EBuOH : extrait butanolique.

EMeOH : extrait méthanolique.

ERA: espèce réactive de l'azote.

ERO: espèce réactive de l'oxygène.

FAE: fraction acétate d'éthyle.

FB: fraction butanolique.

FRAP: Ferric reducing antioxidant power.

IC₅₀ : Concentration d'inhibition correspondant à 50 % de la concentration.

M : Masse en gramme du matériel végétal à traité.

M₀ : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

Mg EAG/g d'extrait sec : mg Equivalent Acide Gallique / g d'extrait sec.

Mg EQ/g d'extrait sec : mg équivalent quercétine / g d'extrait sec.

PR_{0,5} : Pouvoir réducteur 0,5

R% : Rendement en %.

TAC : Capacité Antioxydant totale (molybdate).

TCA : acide trichloracétique C₂HCl₃O₂.

INTRODUCTION

Introduction

Partout dans le monde, l'être humain a su tirer de son environnement des remèdes à des maladies diverses via les expériences cumulées au fil des années. Dans les grandes civilisations qui ont marqué l'humanité, se trouve une bonne partie de l'histoire de l'utilisation des plantes en tant que remède. La civilisation arabo-musulmane a marqué son empreinte dans le domaine des plantes médicinales et a boosté l'exploitation des plantes pour l'usage médicinal (Elhaci, 2015).

Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne surtout avec des remèdes traditionnels à base de plantes. Cette source semble inépuisable puisque seuls près de 400.000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans chimique et pharmacologique, et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs centaines de constituants différents (Farhat, 2016).

C'est dans le cadre d'une valorisation des matières végétales en vue des utilisations thérapeutiques que l'étude des deux espèces de la famille des Lamiaceae est présentée ici. Une large variété de produits naturels caractérise les espèces de cette famille, les plus rencontrés sont les polyphénols, les flavonoïdes, les terpènes et les tanins. Les espèces de la famille des Lamiaceae sont connues pour leurs utilisations en médecine traditionnelle à cause de leurs diverses activités comme : anti-inflammatoire, antipyrétique, cardioactive, antifongique, mais essentiellement l'activité antioxydante (Fraga *et al.*, 2005).

Ce dernier a pour but de défendre contre les oxydants (les espèces réactives oxygénées « ERO ») qui sont l'origine directe de différents états pathologiques tels que le vieillissement et le cancer et indirecte sur la peroxydation des lipides des denrées alimentaires. Quel que soit le cas, le risque est aggravé avec l'accumulation de ces molécules dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules vitales biologiques à savoir l'ADN, les lipides, les protéines et les glucides. En appuyant sur cette vision, un renouveau de la phytothérapie vers cette vague verte qui produit une foule des antioxydants à fin de contrer et piéger ces oxydants (Belyagoubi et Benhammou, 2012).

Les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA) et butylhydroxytoluène (BHT), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (Lisu *et al.*, 2003). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (Yu *et al.*, 2000). Par conséquent, et vue le

désir des consommateurs de retourner à l'utilisation des produits naturels, la recherche des sources naturelles d'antioxydants à provoquer l'intérêt des grands laboratoires spécialisés.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en évaluant les propriétés antioxydantes des trois extraits (méthanolique, acétate d'éthyle et 1-butanol) des deux plantes médicinales d'origine saharienne et méditerranéennes : *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis*.

C'est dans cette optique que se situe notre étude dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

- Préparation des extraits méthanoliques, 1-butanol, et acétate d'éthyle de la partie aérienne de *Thymus algeriensis* et *Lavandula antineae*.
- Evaluation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits préparées des deux plantes.
- Etude de l'activité antioxydante des trois extraits des espèces *Thymus algeriensis* et *Lavandula antineae* par différents méthodes : piégeage de radical DPPH, réduction du fer (FRAP) et la capacité antioxydante totale (TAC).

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 Généralités sur les plantes étudiées

1.1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. Elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (Dutertre, 2011). On appelle plante médicinale toute plante qui renferme un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies et parfois toxique selon son dosage (Boughrara, 2016). Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (Kahlouche-Riachi, 2014).

1.2. Présentation de la plante *Lavandula antineae*

Est une plante aromatique, en générale *lavandula est* l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées, est composé d'environ 39 espèces (Benabdelkader, 2012).

1.2.1. Descriptions botanique

1.2.1.1. Distribution géographique

Lavandula antineae est localisée sur les montagnes sahariennes (Algérie) : Massif central saharien des monts du Hoggar, Tibesti et Ennedi (Bruneau et Quezel, 1961). Elle pousse aussi au Nigeria, au Soudan (Krimat *et al.*, 2014), et au Niger (l'Aïr Montagnes) sur des habitats rocheux de plus de 1500 m (Balchin, 2002). Les lavandes poussent et s'épanouissent mieux dans des terrains secs, bien drainés, légers, sablonneux et pierreux en plein soleil (Grieve, 1971).

1.2.1.2. Classification

D'après (Ozenda, 2004), *Lavandula antineae* (fig.1) est une espèce qui appartient à :

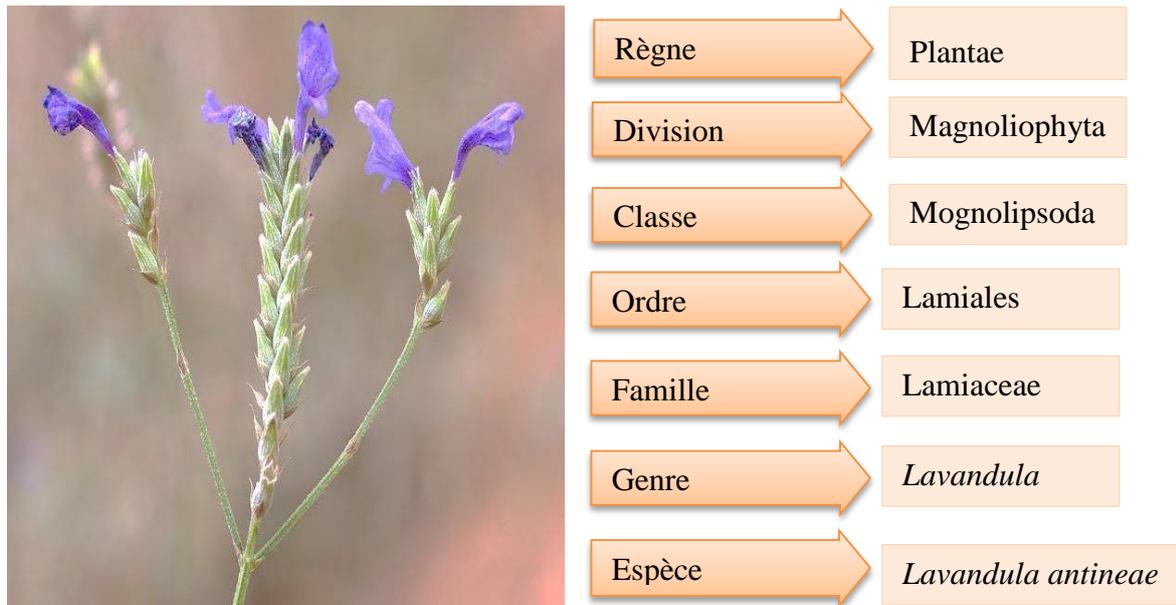


Figure 1. Classification botanique de *Lavandula antineae* (Ozenda, 2004).

1.2.1.3. Caractéristiques

Est une plante à forte odeur, elle est sous arbrisseaux aromatique (Quezel et Santa, 1963), a comme particularité :

Feuilles : florales linéaires ou triangulaires, en général identiques aux autres, mais plus réduites (Quezel et Santa, 1993), elles sont persistantes vertes grisâtres, très variées, décussées, opposées, sessiles ou pétiolées et simples ou composées (Benabdkader, 2012). Fleurs : de 12-15 mm, bractéolées, elles peuvent être le plus souvent bleues foncées (Quezel et Santa, 1993), mauves, violettes pourpres, roses ou lilas et parfois blanches (Benabdkader, 2012). Tiges : elles sont quadrangulaires.

1.2.2. Utilisation

En Algérie, la plante *Lavandula antineae* est utilisée localement dans la médecine traditionnelle pour traiter les frissons, les ecchymoses, les œdèmes et les rhumatismes (Krimat *et al.*, 2014). Elle est diurétique, sudorifique, vermifuge et stimulante. Elle est utilisée depuis des siècles contre les maux de tête, les vertiges, la nausée et notamment comme anti-inflammatoire et antiseptiques et pour traiter certaines brûlures (Djerroumi et Nacef, 2004).

1.3. Présentation de la plante *Thymus algeriensis*

Thymus algeriensis (thym) est une plante aromatique, répandue en Algérie, appartient à la famille de Lamiaceae, qui possède une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique (Gherman *et al.*, 2005).

1.3.1. Descriptions botanique

1.3.1.1. Distribution géographique

C'est une plante très répandue dans le nord-ouest -africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest, en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. Elle est trouvée également en Sibérie et même en Himalaya (Zeghib, 2013). En Algérie, *Thymus* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Nickavar *et al.*, 2005).

1.3.1.2. Classification

Le genre *Thymus* comprend à peu près 70 à 80 espèces de plantes ligneuses (Crespo *et al.*, 1991). D'après Quezel et Santa (1963), *Thymus algeriensis* (fig. 2) est une espèce qui appartient à:

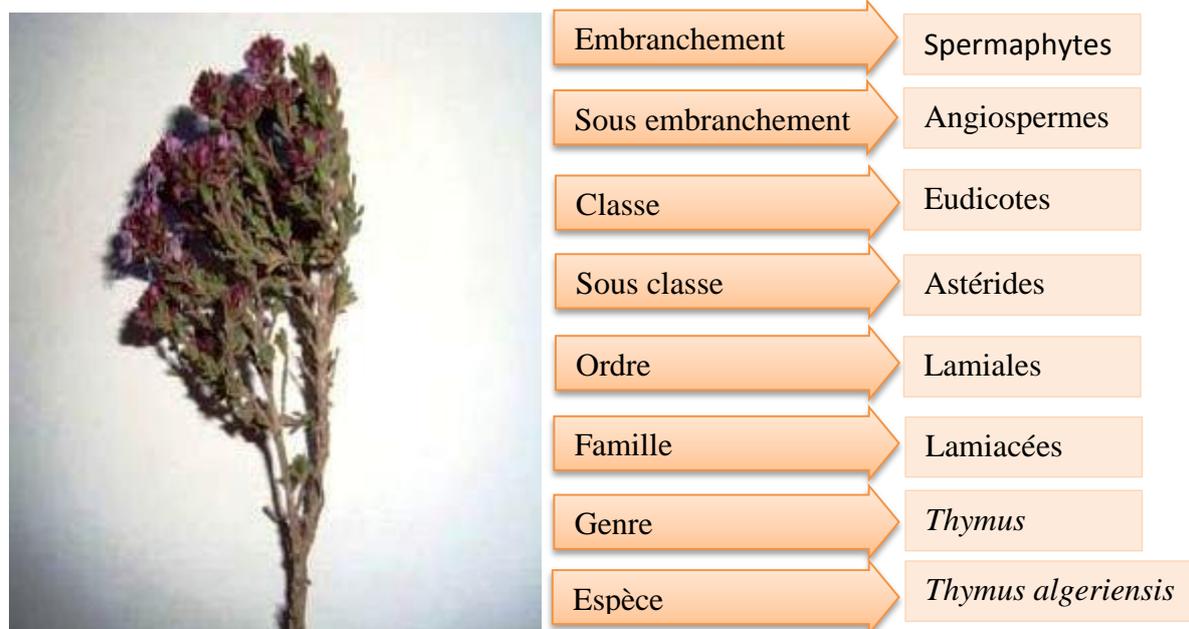


Figure 2. *Thymus algeriensis* (Quezel et Santa, 1963)

1.3.1.3. Caractéristiques

Thymus algeriensis est sous-ligneuses, odorantes, avec des feuilles contractées, elle est sous arbrisseau pouvant atteindre plus de 25 cm de long, aromatisant très agréable (Quezel et Santa, 1962). Cette plante est composée de, Tiges : Sont ligneuses et rameaux sers, grêles, dressés et velus, recouverts feuilles opposées.

Feuilles : elles sont florales courtement pétiolées, elles possèdent de petites feuilles de couleur verte foncée.

Fleurs : elles sont rosées, et très petites d'environ 5 à 6mm, en capitules terminaux avec un calice glanduleux (Beloued, 2005).

1.3.2. Utilisation

Thymus algeriensis est utilisé en médecine traditionnelle pour leurs propriétés biologiques et pharmacologiques. Les feuilles et les fleurs de cette espèce sont largement utilisées pour leur propriétés, antiseptique, carminatif (Amin, 2005 ; Zargari, 1990). Le thym d'Algérie est un amer astringent, stomachique, diaphorétique, antispasmodique et stimulant. Elle est l'un des remèdes populaires les plus utiles, contre toutes les maladies infectieuses comme, la grippe, la pneumonie et les affections de l'appareil respiratoire comme le rhume, et l'angine (Beloud, 2001).

Chapitre 2 Métabolites secondaires

2.1. Généralité

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures (Kahlouche, 2014). Elles sont synthétisées dans une partie de la plante et stockés dans une autre (Vu thi dao, 2008). Elle sont divisés principalement en trois grandes familles, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Bendif, 2017).

2.1.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique à 6 atomes de carbone, portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Nathalie et Jean-Paul, 2006).

2.1.2. Classification des polyphénols

2.1.2.1. Acide phénolique simple

Les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces acides phénoliques sont solubles dans les solvants polaires (Wichtl et Anton, 2009). Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et d'acide cinnamique (fig. 3) (Bruneton, 1993 ; Wichtl et Anton, 2009 ; Collin et Crouzet, 2011).

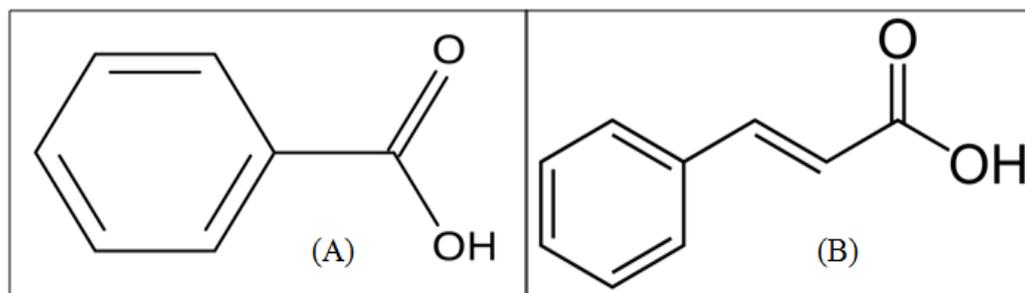


Figure 3. Structure générale de l'acide benzoïque (A) et de l'acide cinnamique (B).

2.1.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances très répandues dans le règne végétal (Boughrara, 2016), elles ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6), les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (Kahlouche, 2014) (fig. 4).

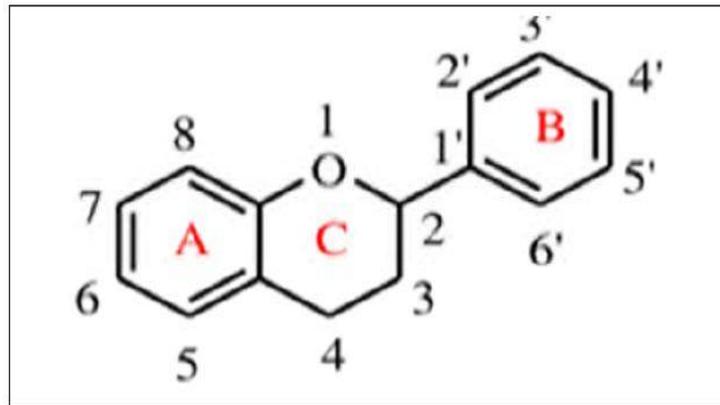


Figure 4. Structure générale du noyau des flavonoïdes (Erlund, 2004).

2.1.2.3. Les tanins

Les acides tanniques sont des composés organiques complexes. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles. Usagée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir (Dangles *et al.*, 1992), ils sont solubles dans l'eau, avec des poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Dalton (Bruneton, 1999), d'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tannins sont distingués :

Les tanins hydrolysables : sont des esters d'acide gallique, qui se lient aux molécules de glucose (Bruneton, 1993 ; Hopkins, 2003) et d'acides phénols, qui sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol (acide ellagique) (Bruneton, 2009).

Les tanins condensés : sont des composés phénoliques hétérogènes, se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères qui sont formés par condensation des molécules de flavonoïdes entre elles (Bruneton, 2009) (fig. 4).

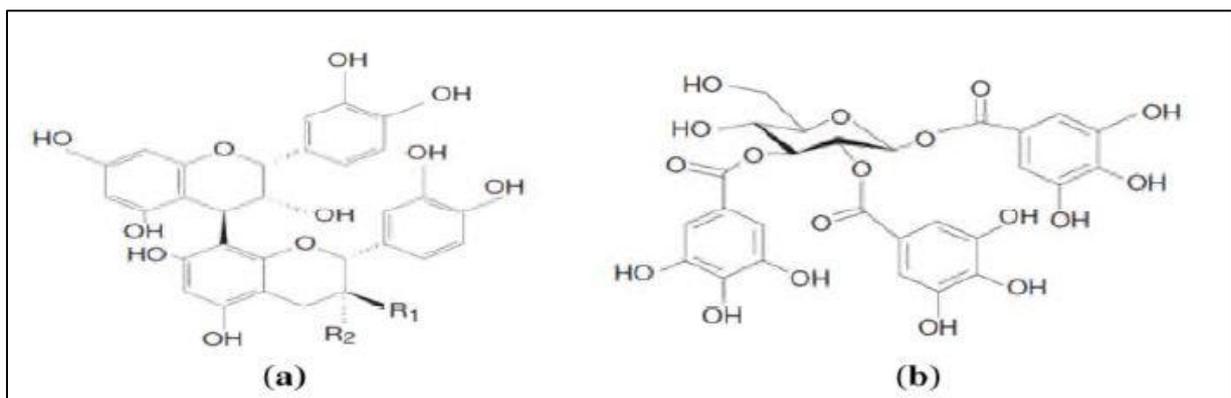


Figure 5. Structure générale du tanin condensé (a) et tanin hydrolysable (b).

Chapitre 3 Activité antioxydante

3.1. Généralités

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, 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 (Meddour, 2001).

3.2. Stress oxydatif

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance oxydants /antioxydants est en équilibre. Cependant dans certains cas, en raison d'une surproduction radicalaire ou d'une diminution des capacités antioxydantes. Un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydants de l'organisme appelé stress oxydatif (Bendif, 2017).

Les espèces activées de l'oxygène de part leur structure électronique instable peuvent attaquer les composants cellulaires. Les molécules biologiques : protéines, les lipides, glucides et l'ADN sont sujettes à l'attaque radicalaire, provoquant ainsi un dysfonctionnement dans les activités vitales des cellules à l'origine du développement de diverses pathologies (Mohammedi, 2013).

3.4. Les radicaux libres

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 (Bendif, 2017).

3.5. Différents formes des radicaux libres

Les radicaux libres interviennent dans les phénomènes du stress oxydant, par la présence d'un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote, ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (tab. 1) et les espèces réactives de l'azote (ERA) (tab. 2).

Tableau 1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Espèces oxygénées réactives radicalaires	Espèces oxygénées réactives non-radicalaires
$O_2^{\cdot -}$ Anion radical superoxyde	1O_2 Oxygène singulet
HO_2^{\cdot} Radical perhydroxyle	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène
HO^{\cdot} Radical hydroxyle	$HOCl$ Acide hypochlorique
RO_2^{\cdot} Radical peroxyde	
RO^{\cdot} : Radical secondaire alkoxyde	

Tableau 2. Les espèces réactives de l'azote (ERA).

Espèces azotées réactives radicalaires	Espèces azotées réactives non-radicalaires
NO^{\cdot} : Monoxyde d'azote	NO_2 : Dioxyde d'azote
	N_2O_3 : Trioxyde d'azote
	NO_2^- : Ion nitrate
	$ONOO^-$: Peroxynitrite

3.5. Les antioxydants

Sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (Mohammedi, 2013).

Systèmes enzymatiques sont des systèmes de défense très efficaces. Selon Lehucher-Michel, (2001) cette ligne de défense est constituée de Superoxyde dismutase (Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde), Catalase (Métabolise H_2O_2), Glutathion peroxydase (Action réductrice sur H_2O_2 et assure la transformation des hydroperoxydes organiques, lipidiques notamment, de type $ROOH$ en ROH).

Systèmes non enzymatiques, comme les vitamines E (α -tocophérol) et vitamines C (Acide ascorbique) et les polyphénols issus des végétaux (flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acide phénolique, tanins, anthocyanines,...etc). La plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (Bendif, 2017).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre 4 Matériel et méthodes

4.1. Matériel

4.1.1 Matériel Végétal

4.1.1.1. Récolte des plantes étudiées

Lavandula antineae

La partie aérienne (feuilles, fleurs, et tiges) de la plante *Lavandula antineae* a été récoltée en mars 2018 de la région de choucha la wilaya de Biskra. Elle est séchée dans un endroit sec et aéré et à l'abri des rayons solaires à température ambiante, puis stockée jusqu'à l'utilisation.

Thymus algeriensis

La plante *Thymus algeriensis* a été récoltée en avril 2018 de la région de Djendel - wilaya de Ain Defla. La partie aérienne de la plante (feuilles, fleurs et tiges) est nettoyée, et séchée à température ambiante et à l'abri de la lumière dans un endroit sec, puis stockée jusqu'à l'utilisation.

L'identification botanique de l'espèce des 2 plantes a été effectuée par Mr FADLAOUI Haroun attachée de recherche au niveau de C.R.S.T.R.A.

4.2. Méthodes

4.2.1. Extraction

Le matériel végétal est broyé grossièrement dans un moulin électrique pour donner une poudre.

4.2.1.1. Préparation des extraits hydro-alcooliques (méthanoliques)

La préparation des extraits méthanoliques de chaque plantes sont réalisée Selon Falleh *et al.* (2008) avec une légère modification. Dans le présent travail, nous avons ciblé les métabolites secondaires (essentiellement des composés phénoliques). Les extraits hydro-alcooliques sont préparés par macération de 100g de la poudre végétale de *Lavandula antineae* dans 600 ml et *Thymus algeriensis* dans 800 ml de mélange méthanol-eau (70:30V/V), pendant 3 jours à l'obscurité à température ambiante. Les extraits hydro-alcooliques sont récupérés dans un premier temps après filtration du mélange à travers le papier filtre Wattman. Les résidus obtenus sont repris pour une deuxième et troisième fois d'extraction avec des différents volumes d'un même mélange hydro-alcoolique pour augmenter le rendement des extraits. Les trois filtrats sont récupérés par l'évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C. Les extraits secs obtenus ont été ensuite conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leurs utilisations (fig. 6).

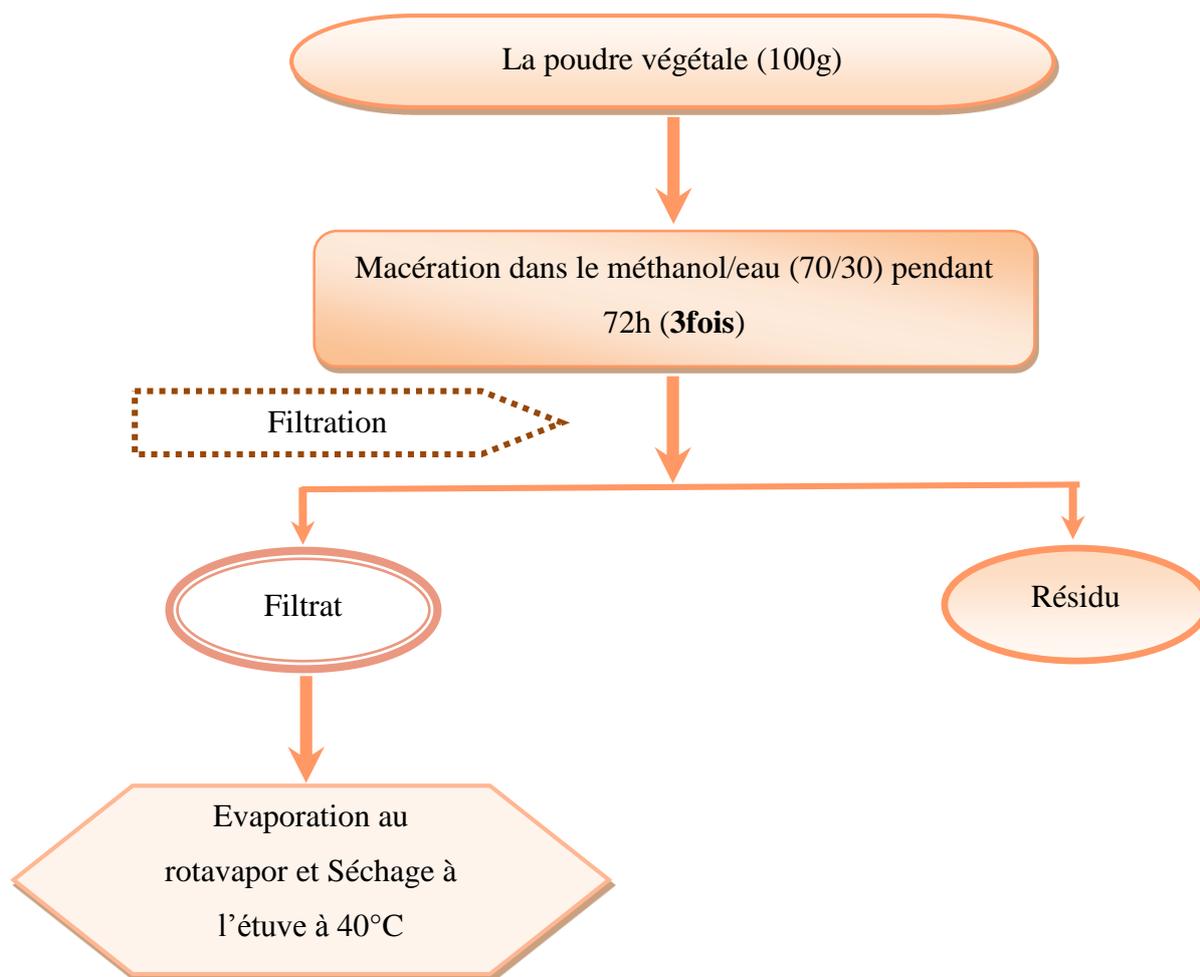


Figure 6. Protocole de l'extraction hydro-alcoolique (Falleh *et al.*, 2008).

4.2.1.2. Fractionnement de l'extrait brut

Pour localiser la fraction antioxydante la plus active, le fractionnement de l'extrait aqueux a été mené en utilisant successivement quatre solvants organiques éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle et le 1- Butanol pour en avoir deux fractions , la fraction acétate d'éthyle (FAE) et la fraction butanolique (FB) (fig. 7).

La phase aqueuse est premièrement mélangée avec 600 ml d'éther de pétrole, le mélange est laissé décanter jusqu'à obtenue la phase organique, la phase aqueuse est récupérée pour continuer les autres étapes.

On ajout 600 ml de dichlorométhane avec agitation et on laisse décanter jusqu'à séparation nette en deux phase, phase dichlorométhane et phase aqueuse.

Après sa récupération, la phase aqueuse résiduelle est soumise à une autre extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle et par le 1-butanol, en suivant les mêmes volumes.

Les différentes phases organique de l'acétate d'éthyle et 1-butanol sont évaporées à l'aide d'un évaporateur rotatif et ensuite séchées dans l'étuve à 40 C°, puis pesés pour calculer le rendement.

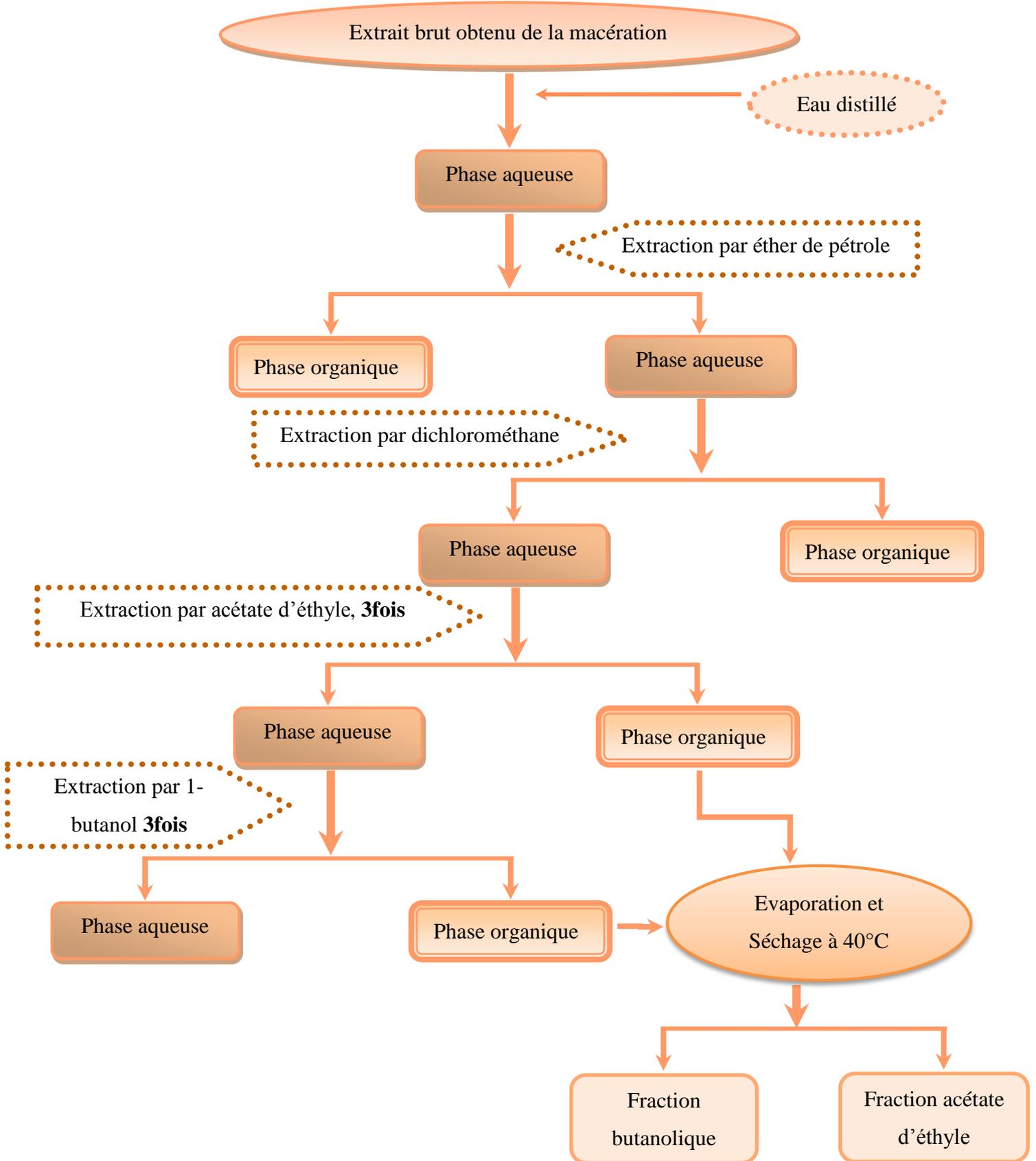


Figure 7. Protocole de fractionnement (Falleh *et al.*, 2008).

4.2.2. Détermination du Rendements des extraits secs

Le rendement indique la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le pourcentage des extraits (méthanolique, acétate d'éthyle et 1-butanol) a été déterminé par la formule suivante :

$$R(\%) = M/M_0 \times 100$$

- ✓ R (%) : Rendement exprimé en %.
- ✓ M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- ✓ M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traité.

4.2.3. Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux

4.2.3.1. Dosages des composés phénoliques

La teneur en phénols totaux des extraits des plantes a été déterminée par la méthode de Djeridane *et al.* (2006) utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (fig. 8).

Un volume de 100 µl pour chaque extrait est introduits dans des tubes à essai, le mélange (500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 1000 µl d'eau distillée) est additionné, Les tubes sont agités et conservés durant 1 min à la température ambiante. Après 1 min 1500 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 20% est ajouté. Les tubes sont agités et conservés durant 1 heure à la température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations (0,8 à 0,0015 mg/ml) d'acide gallique a été préparée. Les teneurs en phénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec).

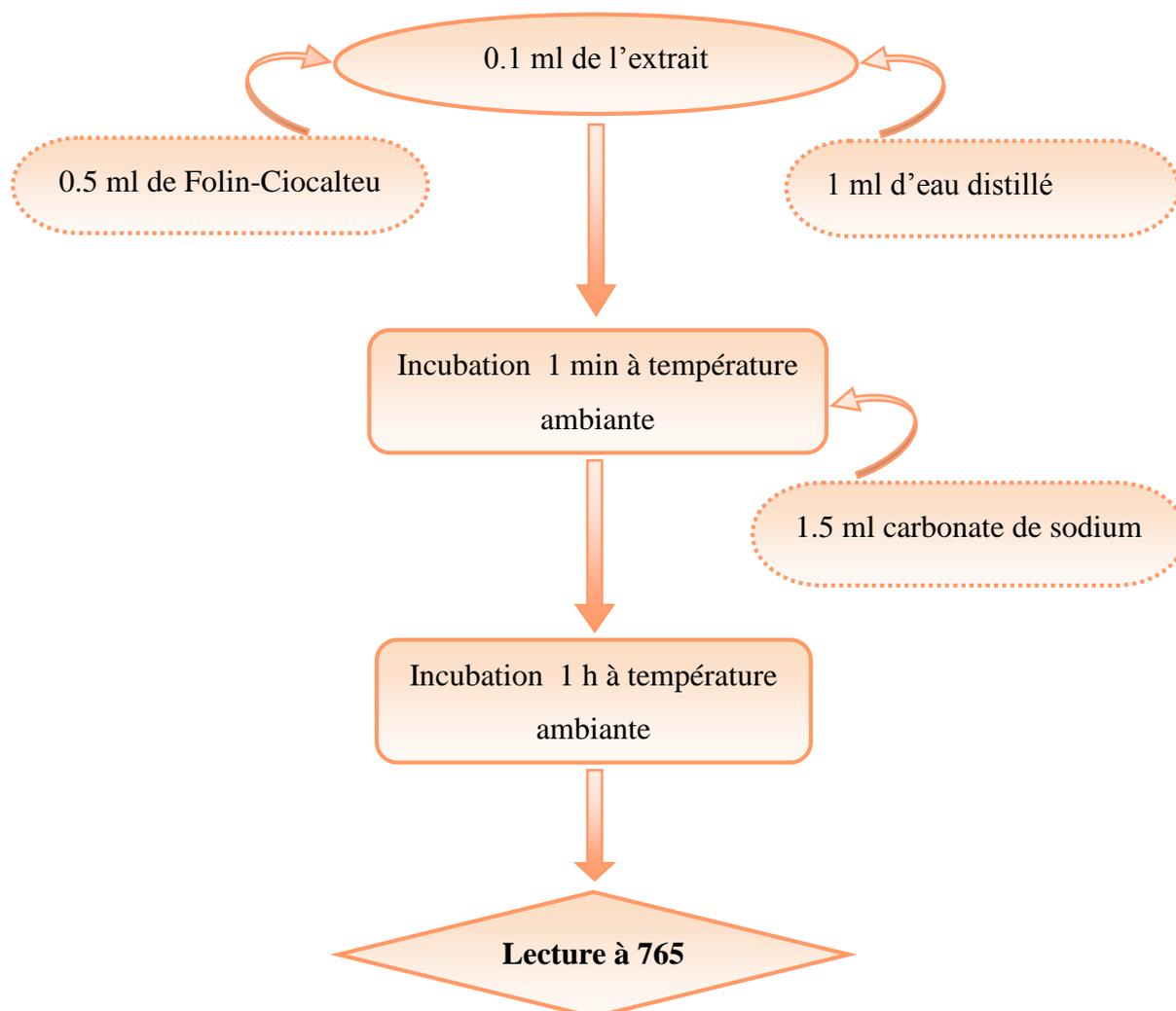


Figure 8. Protocole du dosage des polyphénols.

4.2.3.2. Dosages des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique Adaptée par Topçu (2007) (fig. 9).

500 μ l de chaque extrait est mélangé avec 1500 μ l d'eau distillé suivis de 150 μ l de nitrite de sodium (NaNO_2) (5%), après 5 min 150 μ l de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (10%) est ajouté au mélange, après 6 min d'incubation à la température ambiante, on ajout immédiatement 500 μ l d'hydroxyde de sodium (NaOH) (4%), le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. La lecture est faite à 510 nm contre un blanc l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration des flavonoïdes a été déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée par un standard étalon la quercétine a différentes concentrations (0,8 à 0,0015 mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon, et exprimée en mg d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g d'extrait sec).

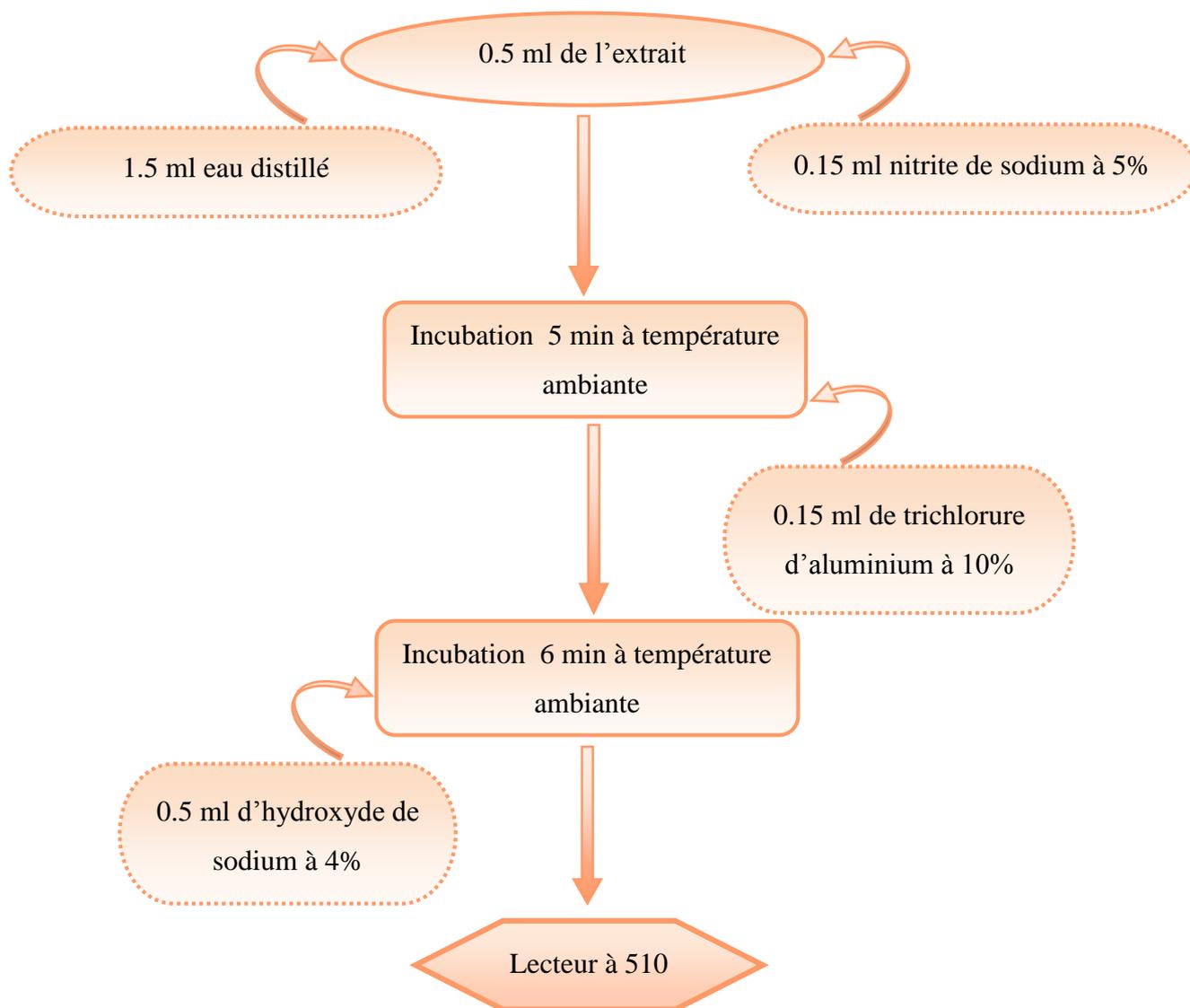


Figure 9. Protocole de dosage des flavonoïdes.

4.2.5 Mis en évidence de l'activité antioxydante

4.2.5.1. Etude de pouvoir réducteur du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-Picryl-Hydrazil)

Principe

La méthode du DPPH• est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui

aboutit à la formation d'une forme non radicalaire, le DPPH-H. Ainsi plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort (Belmokhtar, 2015).



Protocole

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée Selon la méthode de (Lopes-Lutz *et al.*, 2008). 25µl des différentes concentrations (3,2 à 0,0015 mg/ml) de chaque extrait sont ajoutés à 1 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé, en mélangeant 25µl de méthanol avec 1 ml de la solution méthanolique de DPPH, après 30min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante l'absorbance est mesuré au spectrophotomètre de longueur d'onde 515nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, BHA (hydroxyanisole butylé) et BHT (butylhydroxy toluène) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (Bougandoura, 2013) (fig. 10).

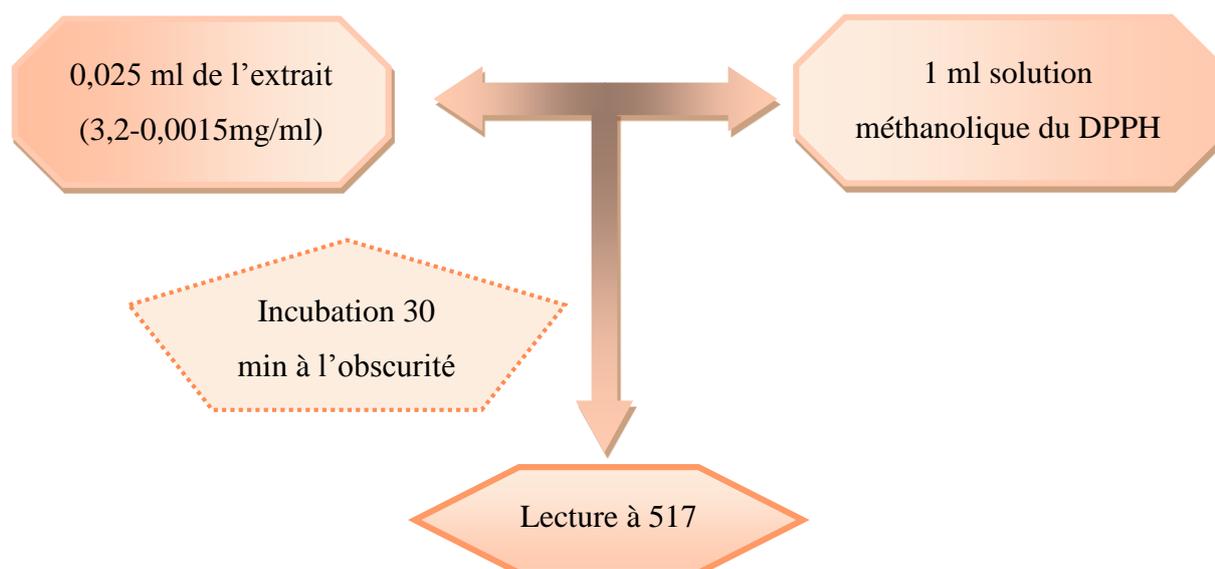


Figure 10. Protocole du test de piégeage du radical DPPH (Lopes -Lutz *et al.*, 2008).

La capacité antioxydante de nos échantillons a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH• suivant l'équation :

$$\% \text{ Inhibition} = (A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) \times 100 / A \text{ contrôle}$$

✓ I %: Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

- ✓ A Échantillon : Absorbance de l'échantillon.
- ✓ A Contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

4.2.5.2. Détermination du pouvoir réducteur du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant, cette technique est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet, le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance de milieu réactionnel est déterminé à 700nm (Hubert, 2006) (fig. 12).

Protocole

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 800 à 1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. ensuite, on ajout 2.5ml d'acide trichloracétique ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé. Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant; BHA et BHT dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi, 1965).

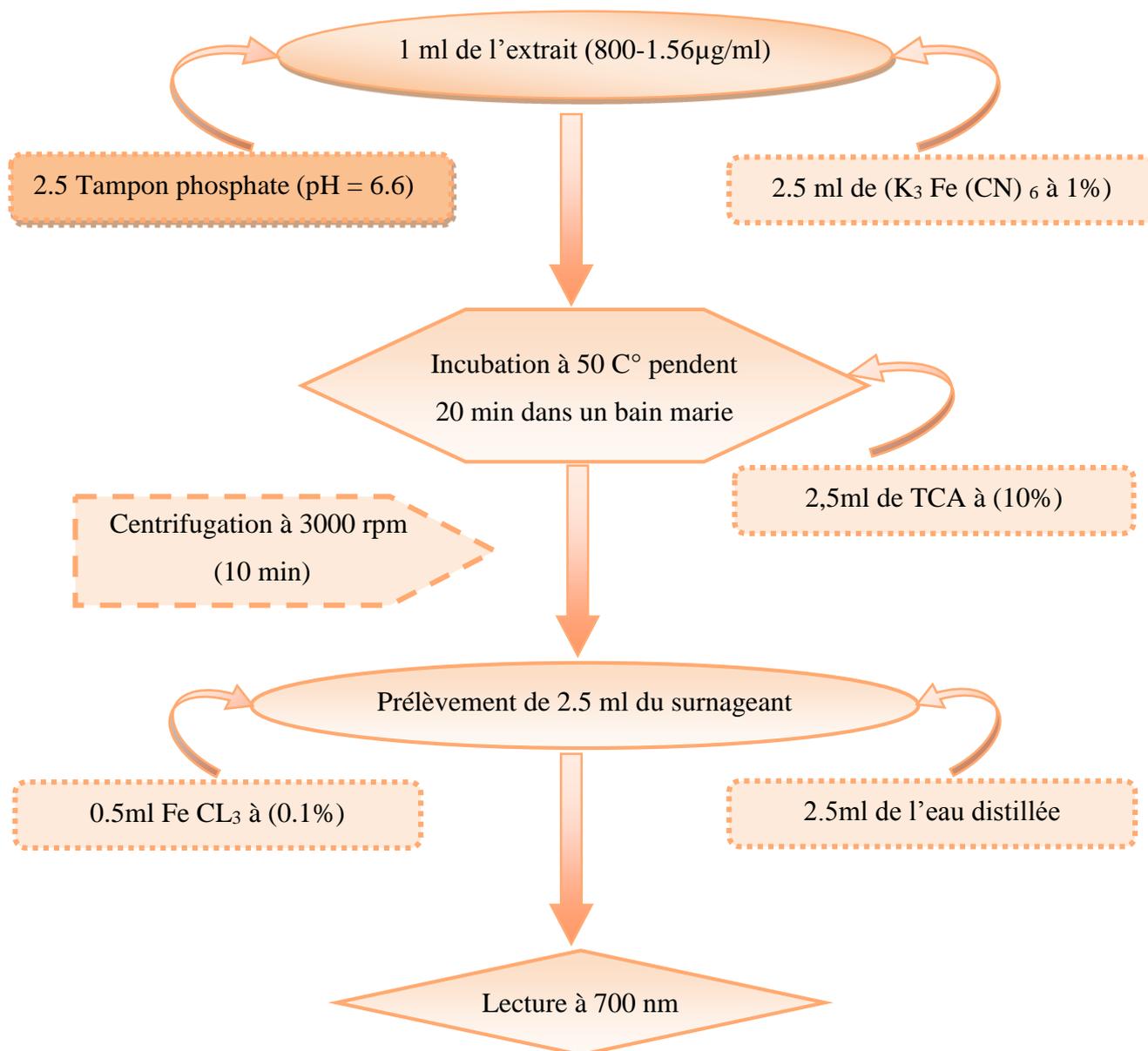


Figure 11. Protocole d'étude de pouvoir réducteur FRAP.

4.2.5.3. Activité antioxydante totale (TAC)

Principe

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (Prieto *et al.*, 1999).

Protocole

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto *et al.* (1999) (fig. 12).

Un volume de 0.1 ml de chaque extrait méthanolique est mélangé avec 1 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme par millilitre (mg / ml).

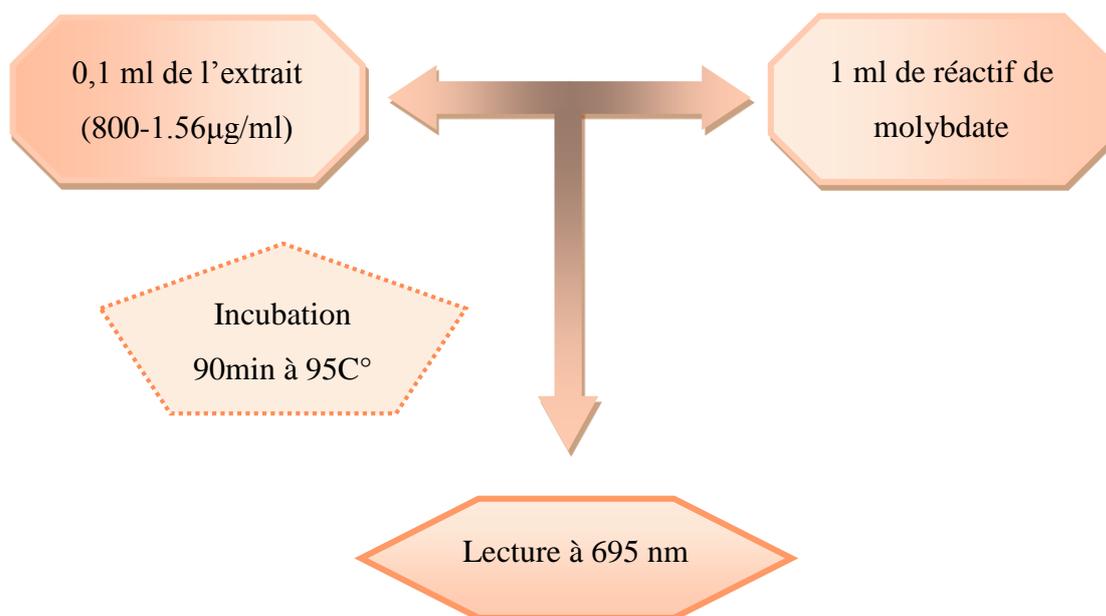


Figure 12. Protocole d'étude de test TAC.

4.3. Analyse statistique

Trois mesures ont été réalisées pour chaque échantillons analysé et résultats ont été exprimé sous forme : moyenne \pm ecartype. Des comparaisons statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SPSS (IBM SPSS Statistics 25) par le test ANOVA 1 ou la différence est considéré comme significatif. La différence ont été considérée d'être significative à $\alpha = 0,05$.

Chapitre 5 Résultats et discussions

5.1. Le rendement d'extraction

Pour l'obtention des différents extraits à partir de poudre de la partie aérienne des plantes *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis*, nous avons réalisé une extraction par macération hydroalcoolique (Falleh *et al.*, 2008).

L'utilisation des solvants à polarité différentes permet de séparer les composés de la poudre de plantes selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction et donc permet de séparer ses flavonoïdes selon leur degré de glycosylation (flavonoïdes aglycones, mono, di et triglycosylés) (kholkhal, 2014).

Après le séchage ; les trois extraits obtenus, l'extrait brut méthanolique, la fraction d'acétate d'éthyle et la fraction butanolique sont tous sous forme poudre, chaque extrait a été caractérisé par sa couleur et son rendement, le tableau 3 résume les différents résultats.

Le rendement d'extrait méthanolique a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec rendu en poudre, mais les deux derniers extraits (acétate d'éthyle et butanolique) sont obtenus à partir de poids sec d'extrait méthanolique.

Tableau 3. Résultats des couleurs des aspects et des extraits des deux plantes.

Les plantes	Extraits	Couleur	Aspect
<i>Lavandula antineae</i>	Méthanolique	Marron foncé	Poudre
	Acétate d'éthyle	Marron claire	Poudre
	Butanolique	Jaune claire	Poudre
<i>Thymus algeriensis</i>	Méthanolique	Vers foncé	Poudre
	Acétate d'éthyle	Vers foncé	Poudre
	Butanolique	Marron claire	Poudre

D'après les résultats obtenus et qui sont résumés dans l'histogramme (fig. 13) Nous constatons que les meilleurs taux des extraits étaient de l'espèce *L. antineae* (Extrait butanolique 68%, acétate d'éthyle 30%), par ailleurs on a remarqué que le rendement le plus élevé de l'espèce *T. algeriensis* est l'extrait butanolique (20.68%), suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle (13.11%), et enfin l'extrait méthanolique (7.4%).

Pour les deux plantes, Le rendement en extrait butanolique était plus élevé par rapport à l'extrait acétate d'éthyle, cette différence était très remarquable pour *L. antineae*.

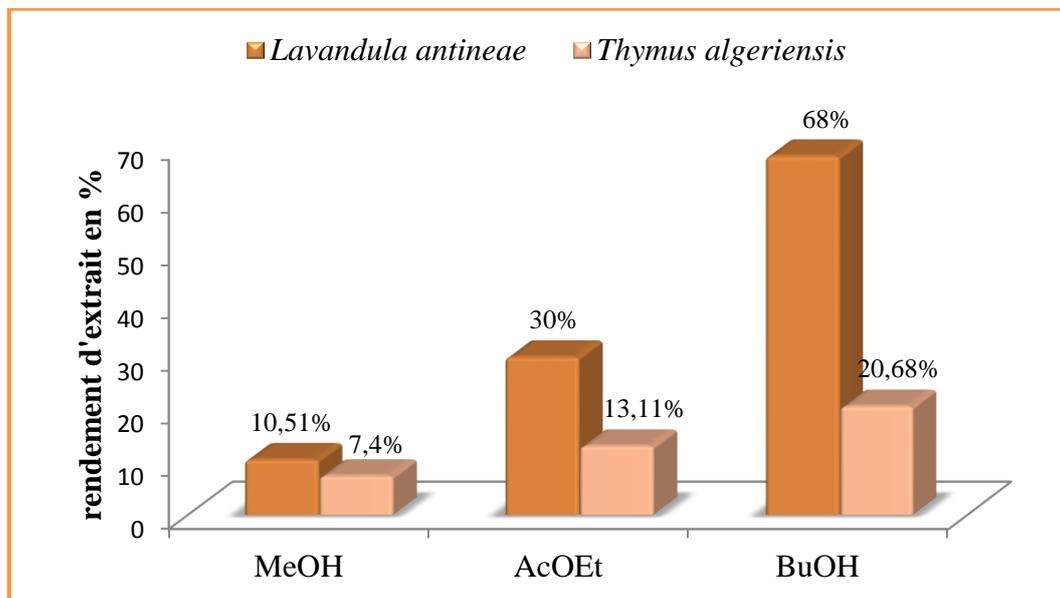


Figure 13. Rendements des différents extraits des deux plantes et *Lavandula antineae* *Thymus algeriensis*.

EMeOH : Extrait méthanolique ; EAcOEt : Extrait de l'acétate d'éthyle ; EBuOH : Extrait de 1- butanol.

Le rendement d'extrait MeOH du *L. antineae* qui a été trouvé dans notre travail était inférieur au résultat de Krimat *et al.* (2014) où le rendement d'extrait méthanolique égale à (15,1%), par contre nos rendements en l'extrait butanolique et acétate d'éthyle (fig. 13) étaient supérieurs aux rendements de Krimat *et al.* (2014) qui sont respectivement 13,31% et 53,70%.

Ainsi le rendement d'extrait méthanolique de *L.antineae* était élevé en le comparant avec le rendement de même extrait de *Lavandula stoechas* (9,78%) trouvé par Balouiri (2011).notre résultat été supérieure au résultat de Bouhrab *et al.* (2014), où l'auteur a travaillé sur les feuilles sèches (100g) de *Lavandula stoechas* et *Lavandula multifida*, et il a trouvé des rendements en extrait éthanolique qui égalent à 2,78% et 1,06% respectivement. Ce qui suggère que le solvant (méthanol) utilisé est le meilleur pour l'extraction.

Le rendement de l'extrait méthanolique de *Thymus algeriensis* qui a été trouvé dans notre travail était inférieur par rapport au résultat de Kholkhal (2013) où le rendement d'extrait méthanolique de *T. algeriensis* était d'une valeur de 9,25%.

Ainsi que notre rendement de l'extrait brut méthanolique est supérieur à celui mentionnés dans le travail de Yakhlef (2010), qui a trouvé un rendement de 6.24 %, à partir des feuilles de *Thymus vulgaris*.

La différence de rendement entre les extraits est probablement due aux plusieurs facteurs, tels que les propriétés génotypiques, le contenu chimique de chaque espèce, ainsi que l'effet de l'origine géographique de la plante (climat et sol), la saison de la récolte, la durée et les conditions de stockage. En plus de la méthode d'extraction, le système solvant utilisé est l'un des facteurs qui influencent le rendement d'extraction et même la qualité de l'extrait (Zaaror, 2012).

5.2. Teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes

Les dosages spectrophotométriques avaient pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

5.2.1. Teneurs en Polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée par la méthode de Djeridane *et al.* (2006) utilisant le réactif de Folin Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage a été tracé en utilisant l'acide gallique comme standard (0,1 à 1,2 mg/ml), et leurs absorbances ont été enregistrés à 765 nm.

Le taux de phénols totaux est déterminé à partir de l'équation de régression linéaire de la gamme d'étalonnage d'acide gallique : $y = 2.570x - 0.557$ sachant que le coefficient de détermination est $R^2 = 0,971$ (fig. 14).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec).

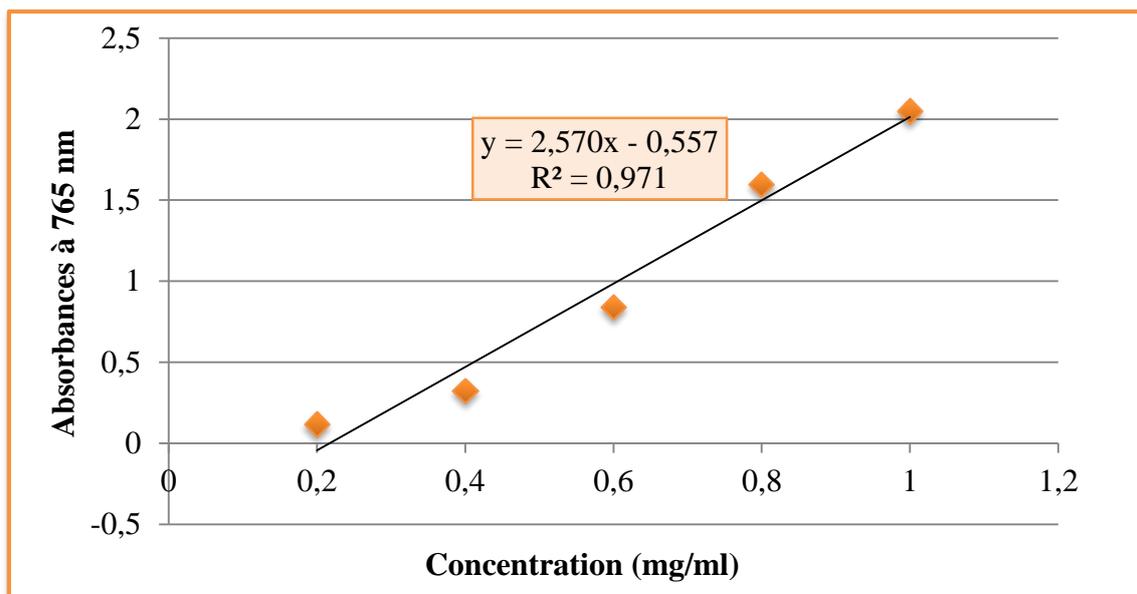


Figure 14. Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les teneurs en composés phénoliques totaux de l'extrait méthanolique et de ses fractions a présentent dans le tableau 4. Il ressort que les teneurs en composés phénoliques les plus élevées se trouvaient dans les fractions acétate d'éthyle des deux plantes *L.antineae* et *T.algeriensis* étaient ($607,67 \pm 0,57$ et $555,33 \pm 0,57$ mg EAG / g d'extrait sec, respectivement), Suivi de l'extrait butanolique de *T. algeriensis* avec une valeur de $482,67 \pm 1,52$ mg EAG/g d'extrait sec. Ceci peut être expliqué par le fait que les composés phénoliques de *L. antineae* et *T.algeriensis* étaient principalement solubles dans l'acétate d'éthyle.

Une différence a été enregistrée entre les teneurs en polyphénols des extraits méthanolique des deux plantes *L. antineae* avec une valeur de $523,33 \pm 0,57$ mg EAG/g d'extrait sec, et *T.algeriensis* égale à $474,00 \pm 0$ mg EAG/g d'extrait sec.

Tableau 4. Résultats du dosage des polyphénols (mg EAG/g d'extrait sec) des différents extraits des deux plantes.

Les plantes	Extraits	Polyphénols mg EAG/g d'extrait
<i>Lavandula antineae</i>	Méthanolique	523,33 ± 0,57
	Acétate d'éthyle	607,67 ± 0,57
	Butanolique	461,00 ± 0
<i>Thymus algeriensis</i>	Méthanolique	474,00 ± 0
	Acétate d'éthyle	555,33 ± 0,57
	Butanolique	482,67 ± 1,52

Les résultats trouvés dans notre travail sur *L.antineae* sont supérieures à ceux mentionnés dans le travail de Krimat *et al.* (2014) qui a obtenu un teneur en composés phénolique de $262,35 \pm 6,04$ mg EAG/g de l'extrait acétate d'éthyle suivi de $22,25 \pm 2,43$ mg EAG/g d'extrait méthanolique et enfin l'extrait butanolique avec une valeur de $16,49 \pm 3,66$ mg EAG/g d'extrait sec.

Ainsi que notre teneur en polyphénols dans l'extrait méthanolique est beaucoup plus élevé de celui présenté dans l'étude d'Echchegadda *et al.* (2014) de *L. dentée* qui est de 184,02 mg/g d'extrait aqueux.

Le teneur en polyphénol totaux de l'extrait méthanolique de *T.algeriensis* qui a été trouvé dans notre travail était supérieur par rapport au résultat de Yakhlef *et al.* (2010) où le teneur d'extrait méthanolique de *T. vulgaris* du partie aérienne était d'une valeur de $165,46 \pm 32,14$ mg EAG/g.

Ainsi que notre teneur de polyphénol est supérieur à celui mentionnés dans le travail de Madi, (2010), qui a trouvé $18,57 \pm 0,02$ mg EAG/g d'extrait méthanolique de *T. algeriensis* d'El-kala.

On compare nos résultats avec ceux obtenus par Bakchiche et Gherib (2014) l'on peut dire que l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* était plus élevé que l'extrait éthanolique de la même espèce avec une valeur $18,73 \pm 4,59$ mg EAG/g de matière sèche.

Cette différence dans les teneurs peut être expliquée par les conditions environnementales, climatiques et période de collecte qui peut modifier les compositions de la plante ainsi que par les facteurs génétiques et les conditions expérimentales. En outre, une grande variabilité à différents stades de maturation et pour différentes conditions de culture, telle que la température et les précipitations, est connue pour affecter les teneurs en composés phénoliques (El abedletal, 2014).

5.3. Teneur en flavonoïde

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Topçu *et al.*, 2007) la quercétine a été utilisée comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 510 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (fig. 15), ayant l'équation: $y = 22,32x + 0,067$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,997$.

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g d'extrait sec).

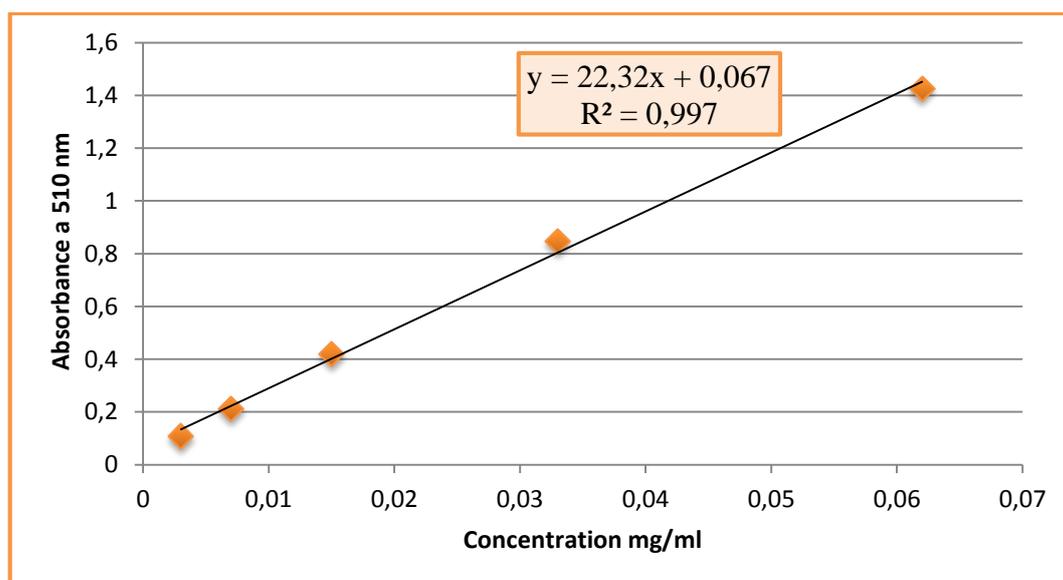


Figure 15. Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique et de ses fractions présentent dans le tableau 5, qui montre que Les teneurs les plus élevées en flavonoïde de *L. antineae* est trouvé dans la fractions acétate d'éthyle $53,24 \pm 0,05$ mg EQ/g d'extrait sec, suivi par la fraction butanolique $22,33 \pm 0,03$ mg EQ/g d'extrait sec et enfin l'extrait méthanolique $17,38 \pm 0,045$ mg EQ/g d'extrait sec, ce qui est due probablement à le fait que les flavonoïdes de *L. antineae* étaient principalement plus solubles dans la fraction l'acétate d'éthyle.

La concentration des flavonoïdes de *T. algeriensis* est de $54,52 \pm 0,09$ mg EQ/g d'extrait butanolique suivi par $49,09 \pm 0,07$ mg EQ/g d'extrait acétate d'éthyle et enfin $27,93 \pm 0,03$ mg EQ/g d'extrait sec pour l'extrait méthanolique.

Dans notre présent travail, on a constaté un teneur plus élevé en flavonoïde dans la fraction acétate d'éthyle de l'espèce *L. antineae* que celle-ci dans la fraction butanolique de l'espèce *T. algeriensis*.

Tableau 5. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux de différents extraits de deux plantes.

Les plantes	Extraits	Flavonoïde mg EQ /g d'extrait
<i>Lavandula antineae</i>	Méthanolique	$17,38 \pm 0,045$
	Acétate d'éthyle	$53,24 \pm 0,05$
	Butanolique	$22,33 \pm 0,03$
<i>Thymus algeriensis</i>	Méthanolique	$27,93 \pm 0,03$
	Acétate d'éthyle	$49,09 \pm 0,07$
	Butanolique	$54,52 \pm 0,09$

Les teneurs en flavonoïde des extraits du *L. antineae* était élevé que celles mentionnées par Krimat *et al.* (2014), qui a trouvé 4.03 ± 0.03 mg EQ/g dans l'extrait méthanolique, 2.51 ± 0.02 mg EQ/g dans l'extrait acétate d'éthyle et 1.96 ± 0.02 mg EQ/g dans l'extrait butanolique.

Nos résultats de l'extrait méthanolique de *T. algeriensis* était inférieur de celles obtenues par Kholkhal *et al.* (2013) qui montrent que la partie aérienne renferme un taux en flavonoïdes de 298,2 mg EC/g, et la partie racinaire de 90,75 mg EC/g.

Ainsi que notre résultat de l'extrait méthanolique a manifesté une teneur plus élevé que celle pour l'extrait éthanolique de Bakchiche et Gherib, (2014) qui égale à $3,24 \pm 0,60$ mg EQ/g de matière sèche)

Nos résultats montrent que la fraction acétate d'éthyle est riche en flavonoïdes par rapport à la fraction butanolique pour l'espèce *L. antineae*, par contre l'espèce *T. algeriensis* qui est riche en flavonoïdes dans l'extrait butanolique par rapport à celui de l'extrait d'acétate d'éthyle. La richesse en flavonoïdes dans nos extraits est due à la méthode d'extraction qui

menée à température ambiante ce qui permet d'extraire le maximum des composés (Topçu, 2007) et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction (Lee *et al.*, 2003).

5.4. Résultats des activités antioxydantes

L'activité antioxydante de la partie aérienne des deux plantes est principalement due aux composés actifs présents dans celles-ci. Dans cette étude, L'activité antioxydante de *L. antineae* et *T.algeriensis* a été mesurée à l'aide du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), du pouvoir réducteur (FRAP) et de l'activité antioxydants totale(TAC) (Bougandoura, 2012).

5.4.1. Etude de pouvoir réducteur du radical DPPH

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques, acétate et butanolique des deux plantes et de l'antioxydant standard (BHA, BHT) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

Les courbes du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentration des BHA, BHT, les extraits de *L.antineae* et de *T.algeriensis* sont illustrées dans les figures 16, 17, 18, 19 respectivement.

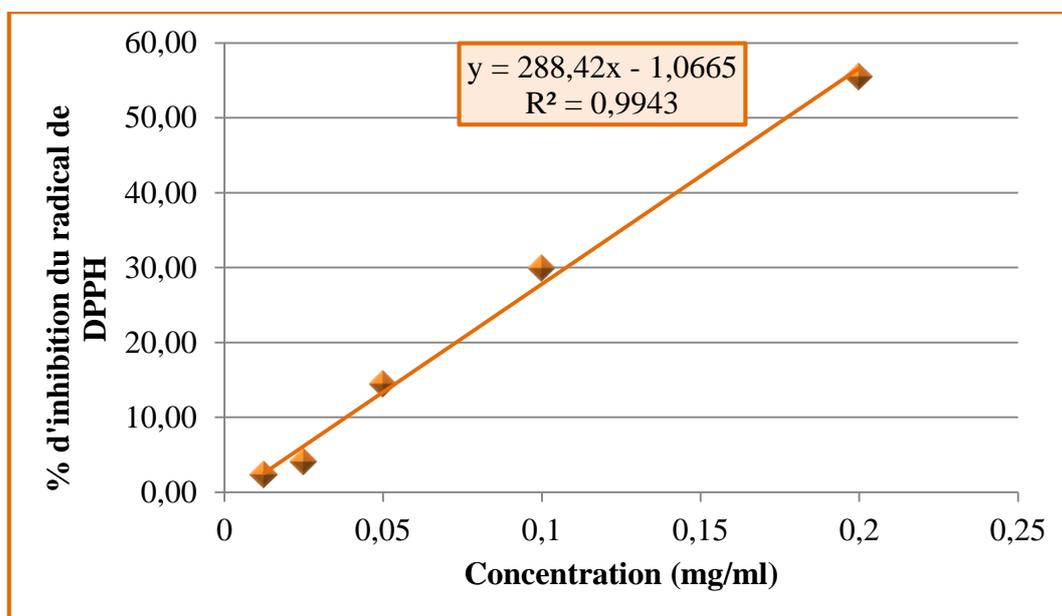


Figure 16. Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction de la concentration de BHA.

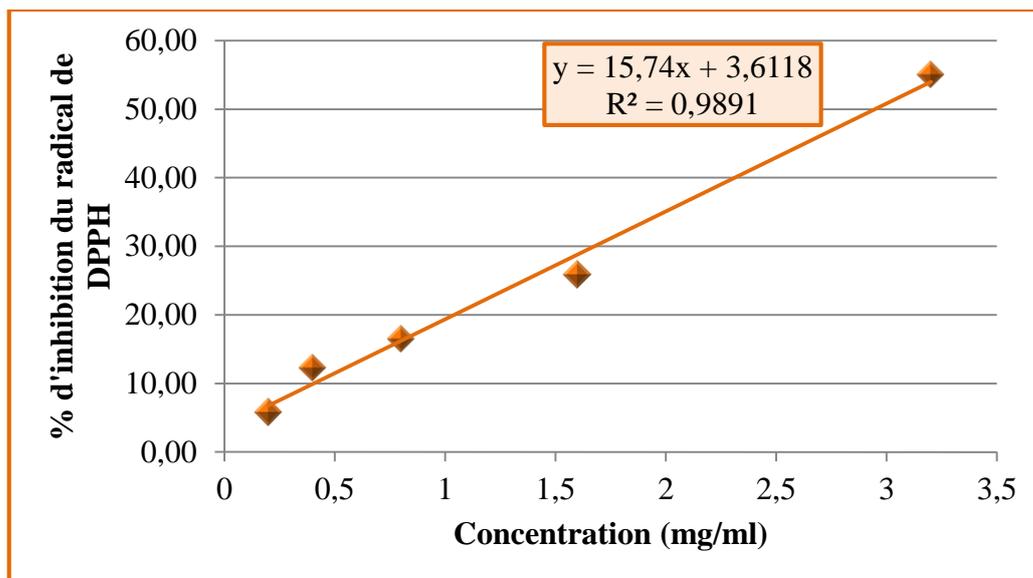


Figure 17. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de BHT.

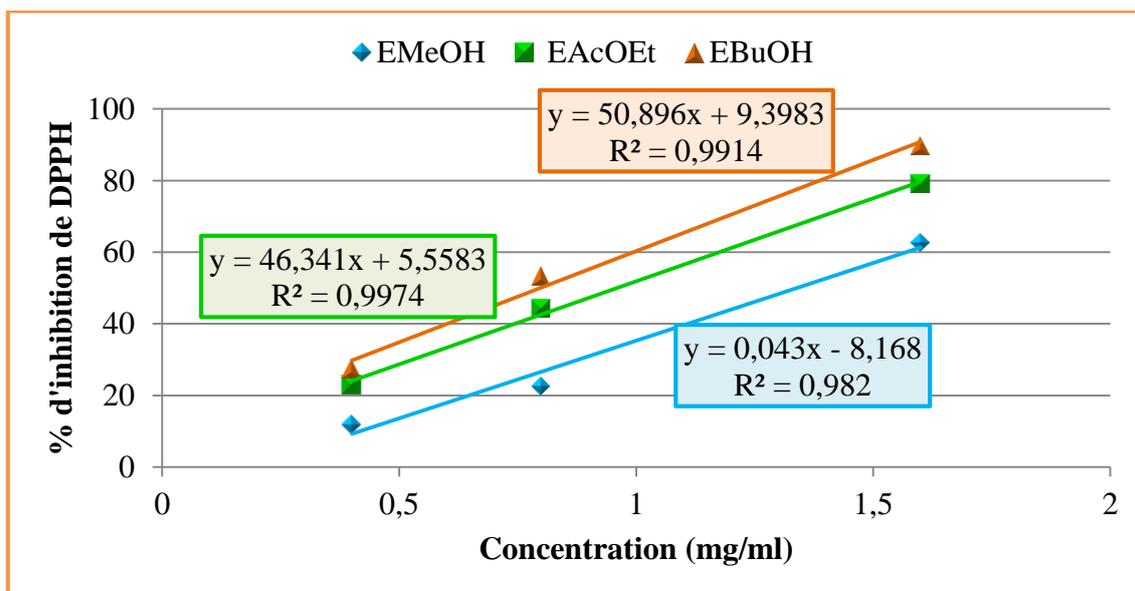


Figure 18. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des extraits de *L. antineae*.

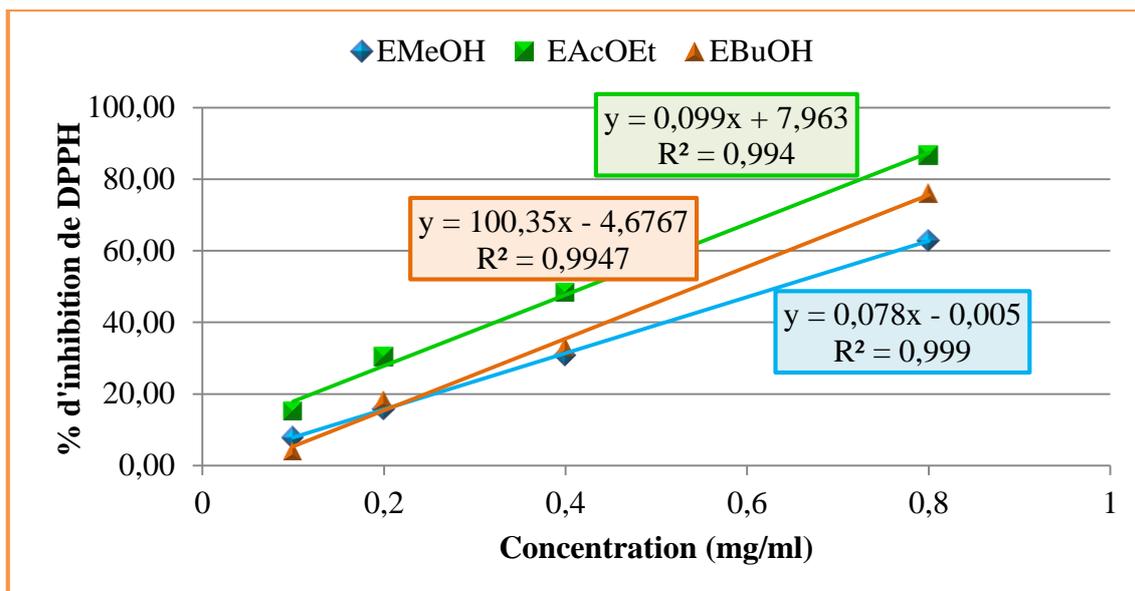


Figure 19. Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration des extraits de *T. algeriensis*.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les standards ou pour les extraits testés.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *L. antineae* mentionné une activité de piégeage du DPPH nettement proche à pourcentage d'inhibition de *T. algeriensis*, et plus important que celle des antioxydants standards (BHA à 55,52% et BHT à 55,11%) (fig. 16 et 17). Son pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 62,7% et 62,91%, à une concentration finale de 0,8 mg/ml (fig. 18 et 19).

Pour les fractions de l'espèce *L. antineae* montrent que les pourcentages d'inhibition de DPPH des extraits sont 89,74% et 79,16% respectivement pour les extraits butanolique et acétate d'éthyle (fig. 18), par contre *T. algeriensis* sont 76,12% et 86,64% (fig. 19), toujours à la même concentration.

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Ismaili *et al.*, 2017) Les calculs des IC50 sont schématisés sur la figure 20.

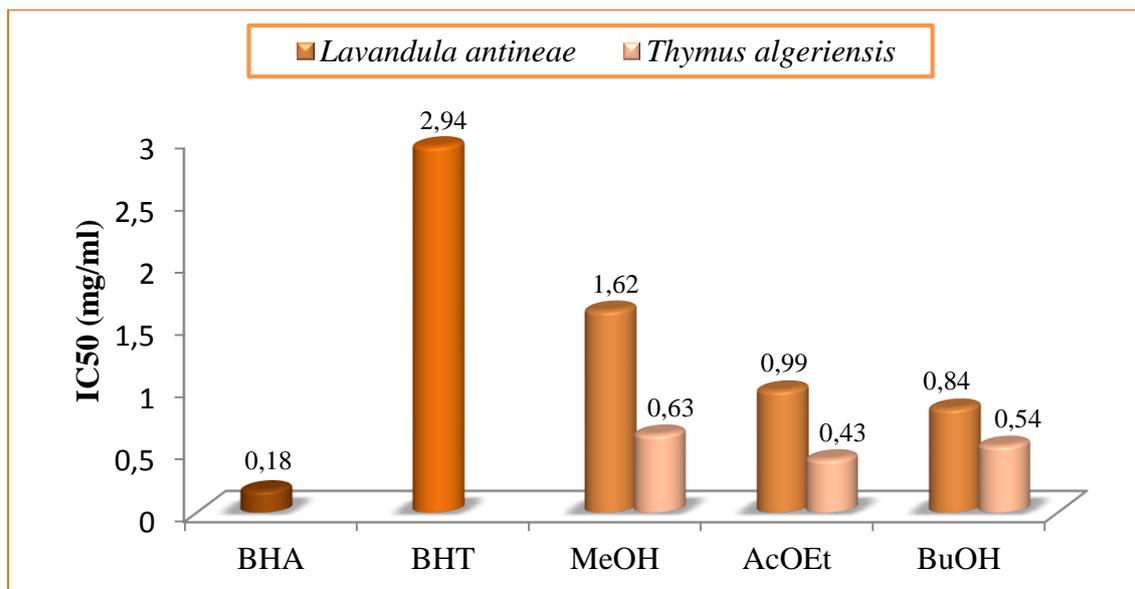


Figure 20. IC₅₀ des extraits des deux plantes du test de piégeage du radicale DPPH.

Tous les extraits des deux plantes et les standards ont un pouvoir anti-radicalaire vis-à-vis du DPPH (fig. 20). Le standard BHA présente une meilleure activité anti-radicalaire (IC₅₀ égale 0,18 ± 0,001 mg/ml), même supérieure à celle du standard BHT (IC₅₀ égale 2,94 ± 0,03 mg/ml).

Pour l'extrait méthanolique, la meilleure activité est enregistrée dans l'espèce *T.algeriensis* à une valeur de 0,63 ± 0,01 mg/ml.

L'extrait acétate d'éthyle manifeste aussi une bonne activité en comparant avec l'extrait butanolique de l'espèce *T. algeriensis*. Par contre, *L.antineae* montre que la bonne activité anti-radicalaire présente dans l'extrait butanolique à IC₅₀ égale 0,43 ± 0,002 mg/ml, l'étude statistique ($p = 0,632 >> 0,05$), montre qu'il n'y a pas une différence significative entre les extraits des deux plantes.

Nos résultats de l'activité anti-radicalaire des extraits de *L.antineae* sont inférieurs à celui mentionnés dans le travail de Krimat *et al.* (2014) qui a trouvé une valeur d'IC₅₀ égale 0,007 ± 0,0002 mg/ml pour l'extrait acétate d'éthyle, suivi par une IC₅₀ égale 0,016 ± 0,0006 mg/ml pour l'extrait butanolique et enfin une IC₅₀ égale 0,023 ± 0,0002 mg/ml pour l'extrait méthanolique de la même plante.

En comparant les résultats de l'espèce *T.algeriensis*, les extraits acétate d'éthyle et butanolique possèdent une activité antioxydante supérieure à celle étudiée par Kholkhal *et al.*, (2013), qui montrent que la concentration d'inhibition varie considérablement entre les deux organes, la partie aérienne de *T.ciliatus* est présentée une activité anti-radicalaire (IC₅₀

égale à 0,85 mg/ml) pour l'extrait acétate d'éthyle et IC₅₀ égale à 1,5 mg/ml pour l'extrait butanolique. Par ailleurs, Les extraits acétate d'éthyle et butanolique des racines ont présenté une activité anti-radicalaire (IC₅₀ égale à 4,5 mg/ml et IC₅₀ égale à 6.25 mg/ml respectivement), ceci s'explique par le fait que nos extraits contiennent des quantités supérieures en composés antioxydants.

Ainsi que notre activité anti-radicalaire de l'extrait brut méthanolique est inférieur à celui mentionnés dans le travail d'Ismaili *et al.*, (2004) qui montre qu'une excellente efficacité de l'extrait méthanolique de *T.satureioides* à piéger le radical DPPH en enregistrant une IC₅₀ égale 0,014 mg/ml.

Notre extrait méthanolique possède des capacités de neutralisation du radical libre DPPH intéressantes, puisqu'ils agissent à faible dose, par rapport au résultat de Bakchiche et Gherib (2014), qui a montré que l'extrait éthanolique de *T. algeriensis* a présenté une activité anti-radicalaire de 0.235 ± 0.018 mg/ml.

5.4.2. Détermination du pouvoir réducteur du fer (FRAP)

C'est une analyse de l'activité antioxydante rapide, et reproductible. Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité des polyphénols (spécialement les flavonoïdes) à réduire le fer ferrique Fe³⁺ en fer ferreux Fe²⁺. En traçant les courbes des absorbances obtenues de nos différents extraits pour les deux plantes étudiée (figures 22 et 23), on a pu remarquer que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos extraits, et ça été confirmé par beaucoup d'autres scientifiques (Su *et al.*, 2008 ; Liuk *et al.*, 2009).

Les résultats représentés dans figures 21 et 22 ont révélé que le pouvoir réducteur des échantillons augmente avec une augmentation de la concentration (une absorbance élevée à 700 nm correspond à un pouvoir réducteur élevé).

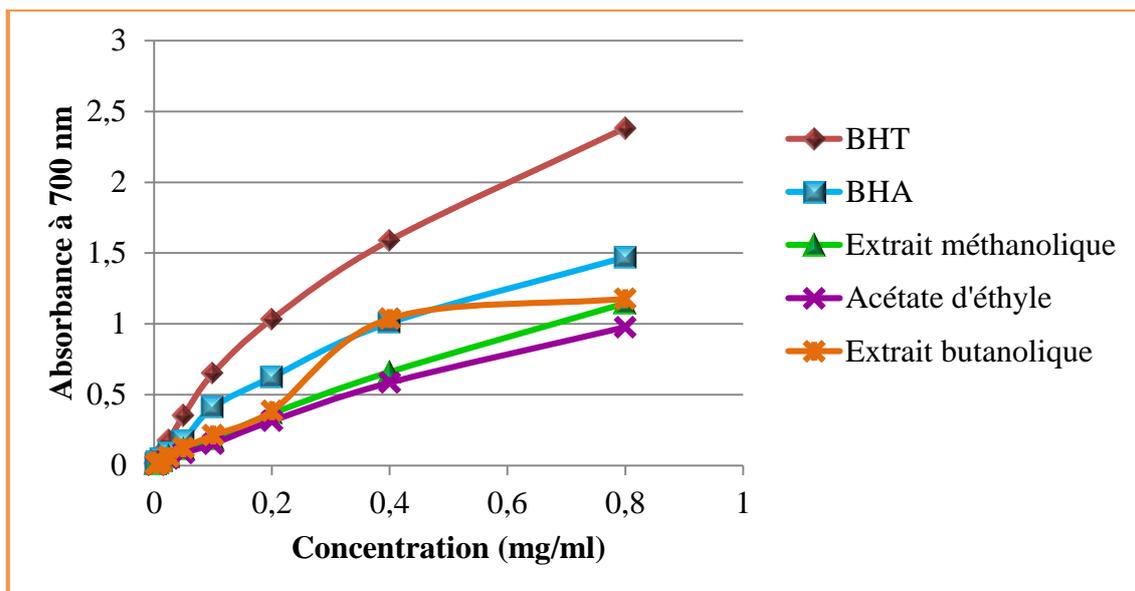


Figure 21. Pouvoir réducteur des différents extraits de *L. antineae*.

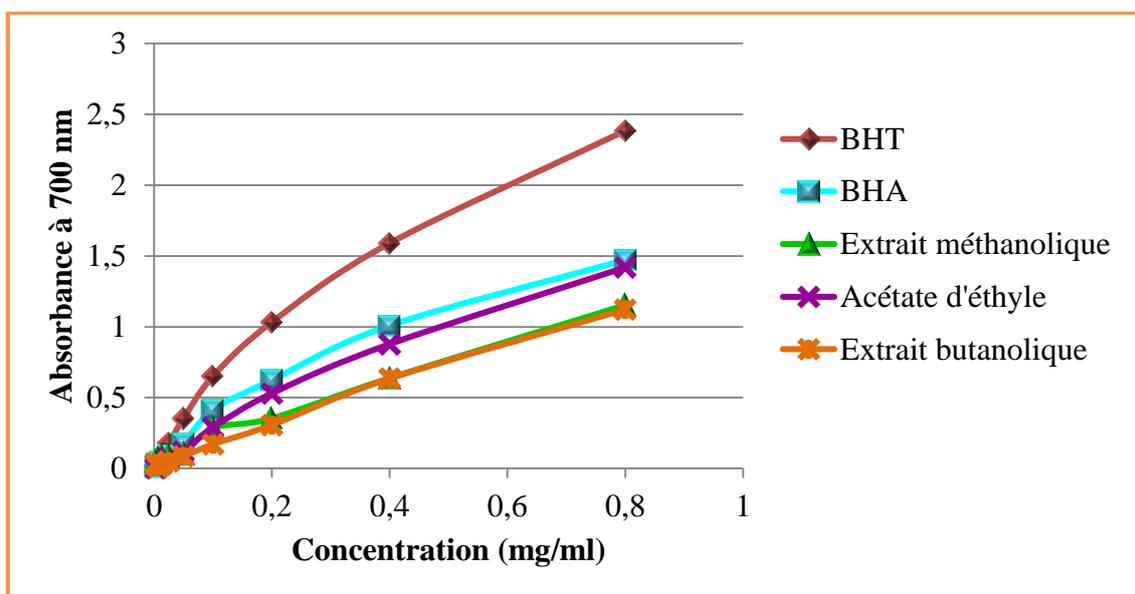


Figure 22. Pouvoir réducteur des différents extraits de *T. algeriensis*.

Nous pouvons voir que la capacité réductrice des standards (BHA et BHT) est supérieure à celle des extraits des deux plantes (fig. 21, 22).

Dans notre travail (fig. 21, 22), nous avons pu constater que l'extrait butanolique de l'espèce *L. antineae* a manifesté un pouvoir réducteur plus important avec une absorbance de $0,38 \pm 0,002$ enregistrée à la concentration 0,2 mg/ml, par contre l'espèce *T. algeriensis* a donné un pouvoir réducteur plus important dans l'extrait acétate d'éthyle avec une absorbance de $0,52 \pm 0,007$ à la même concentration. Par ailleurs le pouvoir réducteur le plus faible a été enregistré dans l'extrait acétate d'éthyle de *L. antineae* avec une absorbance de $0,31 \pm 0,001$,

suivi par l'extrait butanolique de *T. algeriensis* avec une absorbance de $0,15 \pm 0,005$ toujours à la même concentration.

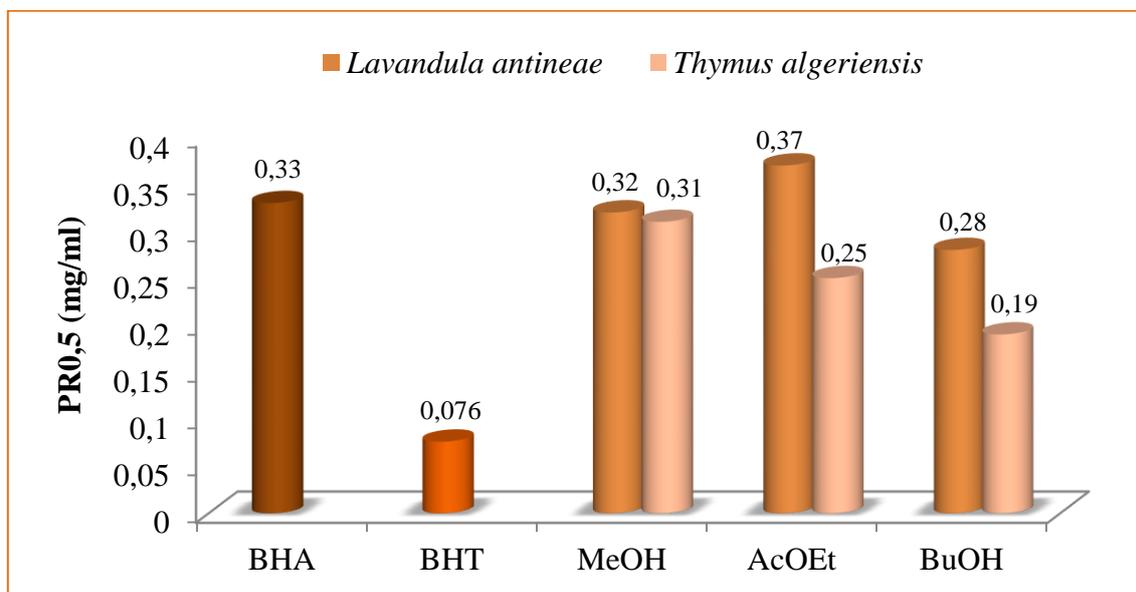


Figure 23. Pouvoir réducteur des différents extraits des deux plantes.

Les résultats consignés dans la figure 23 montrent que L'extrait butanolique de *T. algeriensis* a manifesté un fort pouvoir réducteur ($PR_{0,5} = 0,19 \pm 0,004$ mg/ml) qui est meilleur à celui de BHA, par contre, qui est plus faible que celle de standard BHT, Le classement des extraits testés comparativement avec les deux témoins, BHA et BHT selon leur activité antioxydante par ordre décroissant est comme suite :

BHT (0,076 mg/ml) > EBUOH (0,19 mg/ml) > EACOEt (0,25 mg/ml) > EMeOH (0,31 mg/ml) > BHA(0,33) pour l'espèce *T.algeriensis*.

BHT (0,076 mg/ml) > EBUOH (0,28 mg/ml) > EMeOH (0,32 mg/ml) > BHA(0,33) > EACOEt (0,37 mg/ml) pour l'espèce *L.antineae*.

D'après ce classement, on remarque que l'extrait butanolique de *L. antineae* a une meilleure activité que celles de l'extrait acétate d'éthyle.

D'après l'analyse statistique on constate qu'il n'y a pas de différence significative entre les extraits des deux plantes ($p = 0,518 \gg 0,05$) dans l'activité antioxydante.

Nos résultats des extraits de *L. antineae* étaient inférieurs par rapport aux pouvoirs réducteurs déterminés par Krimat *et al.*, (2014), qui a étudié la partie aérienne de la même espèce qui a une valeur de $0,073 \pm 0,001$ mg/ml pour l'extrait acétate d'éthyle, suivi de $0,201 \pm 0,001$ mg/ml pour l'extrait méthanolique, par contre notre extrait butanolique a une forte

activité de réduire le fer par rapport à celui trouvé par Krimat *et al.*, (2014) avec un valeur de $0,37 \pm 0,006$ mg/ml pour le même extrait.

5.5. Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydant obtenus à partir des extraits brut méthanolique, butanolique et acétate d'éthyle a été estimée grâce à une courbe, réalisée avec un extrait de référence, l'acide ascorbique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide ascorbique par ml d'extrait (mg/ml d'extrait).

Les figures 24 et 25 rapportent les résultats obtenus du pouvoir antioxydant testé par la méthode au molybdate d'ammonium des différents extraits organiques des deux plantes *T. algeriensis* et *L. antineae*.

La capacité antioxydante totale des extraits des plantes étudiées a été déterminée et comparée avec le standard, en l'occurrence l'acide ascorbique. Les résultats obtenus exprimés en terme de pouvoir réducteur 0,5, ont montrés que l'extrait butanolique de *L. antineae* a manifesté une absorbance plus important de $1,26 \pm 0,005$ enregistrée à la concentration 3,2mg/ml, Suivie de l'extrait acétate d'éthyle avec une absorbance de $1,12 \pm 0,003$, puis l'extrait méthanolique avec une absorbance $0,68 \pm 0,004$, à la même concentration (fig. 24). Par ailleurs l'extrait acétate d'éthyle de *T. algeriensis* (fig. 25) a présenté une absorbance plus élevé que celle du butanol ($1,56 \pm 0,013$ et $1,4 \pm 0,01$ à la concentration 3,2mg/ml, respectivement), suivi de l'extrait méthanolique ($0,92 \pm 0,004$).

Les résultats obtenus montrent que les absorbances du standard et des extraits augmentent en fonction de la concentration. Par ailleurs les absorbances du standard restent supérieures aux absorbances des différentes fractions des deux plantes.

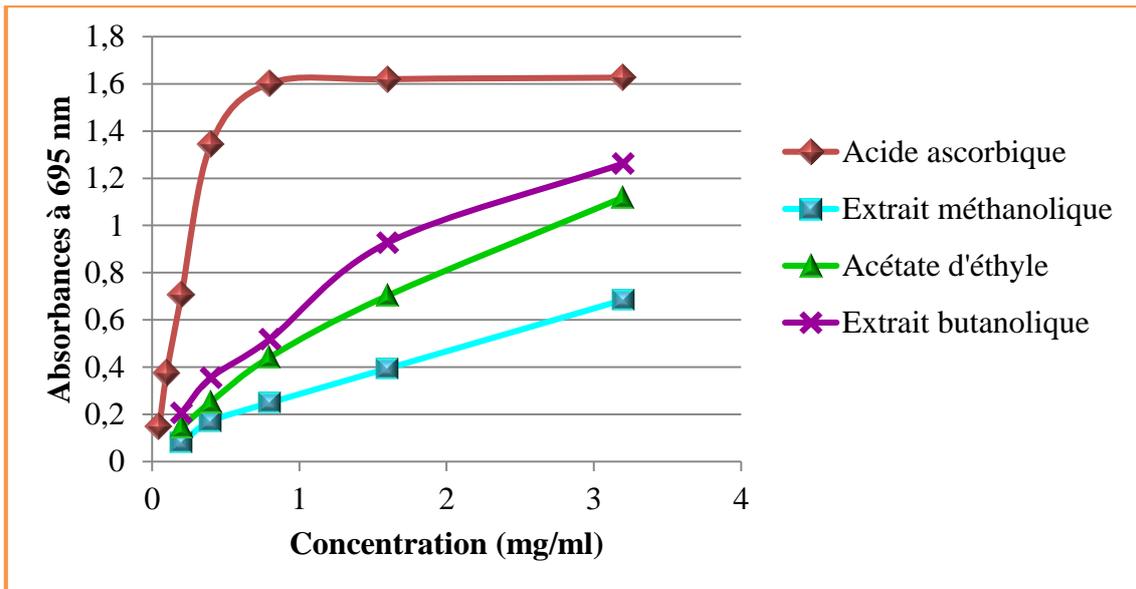


Figure 24. La capacité antioxydante totale des différents extraits de *L. antineae*.

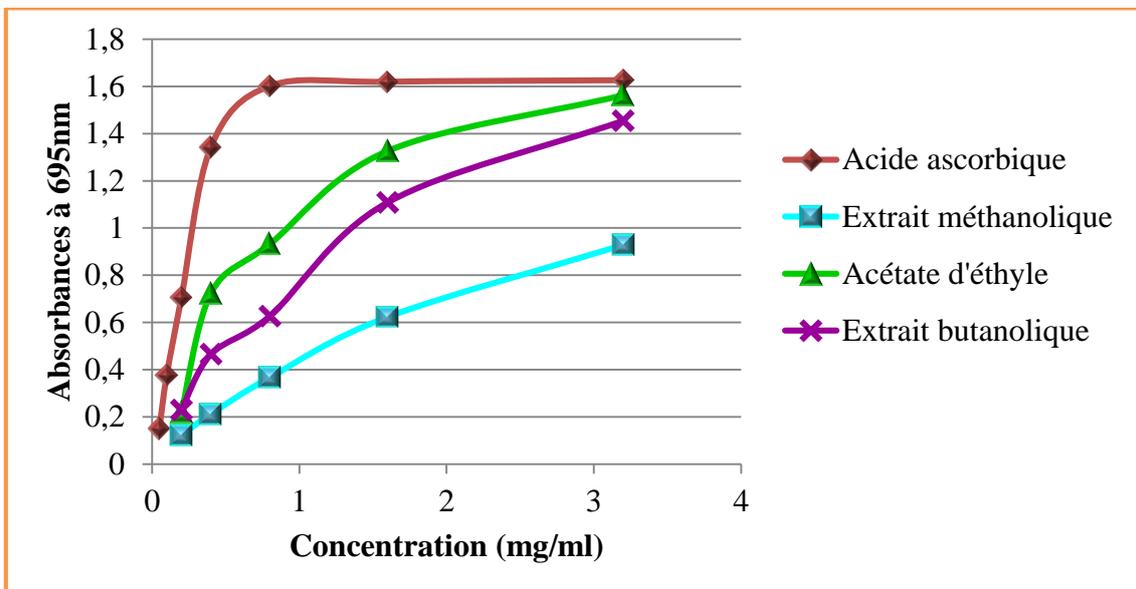


Figure 25. La capacité antioxydante totale des différents extraits de *T. algeriensis*.

A partir des résultats obtenus (fig. 26), nous avons remarqué que le contrôle positif (acide ascorbique) a présenté une activité antioxydante totale importante. Quant aux extraits organiques de *L. antineae*, nous avons remarqué que l'extrait butanolique a présenté le pouvoir antioxydant le plus important par rapport aux autres extraits, (absorbance 0.5 à une concentration de 0,92 mg/mL), suivi par celui de l'extrait acétate d'éthyle (absorbance : 0.5 à une concentration de 1,2 mg/mL) et l'extrait méthanolique avec une concentration de 2,11 mg/ml.

En l'occurrence, la fraction acétate d'éthyle de *T. algeriensis* a manifesté un pouvoir réducteur plus importante à l'absorbance 0,5 qui égal à 0,35 mg /ml que la fraction

butanolique (0.52 mg/ml) par ailleurs en remarquant que le plus faible pouvoir à enregistré dans l'extrait méthanolique de *L. antineae* (1,25mg/ml).

D'après l'étude statistique ($p = 0,129 \gg 0,05$), montre qu'il n'y a pas une différence significative entre les extraits des deux plantes.

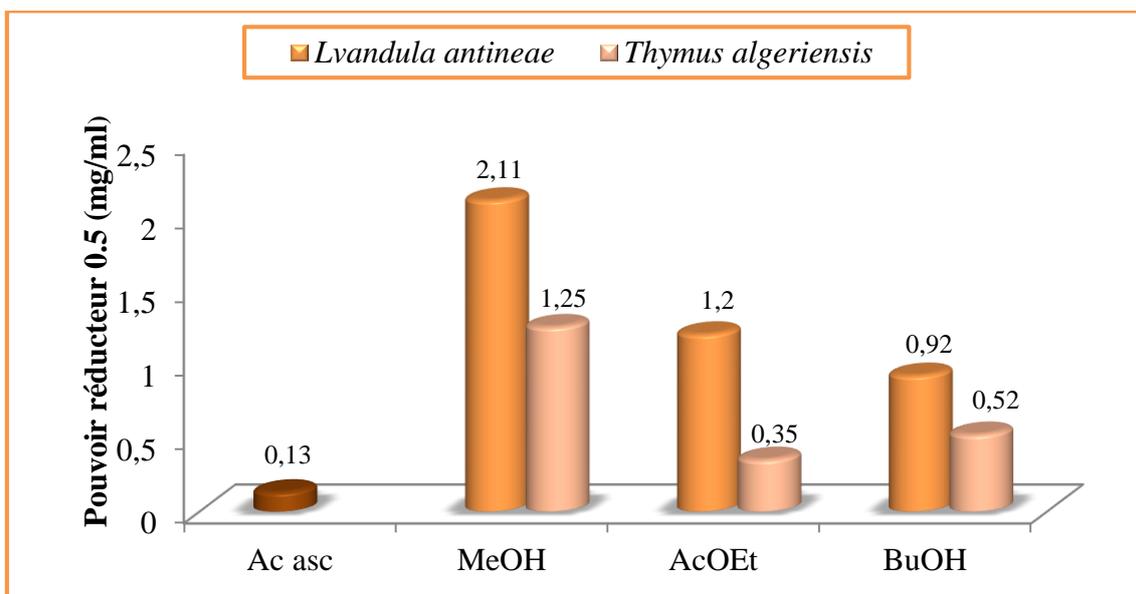


Figure 26. La capacité antioxydante totale des différents extraits des deux plantes.

Les propriétés biologiques, sont liées certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives, synthétisées par la plante comme des agents thérapeutiques. Ces molécules naturelles phénoliques sont très recherchées en phytothérapie vue les effets secondaires des médicaments et les séquelles néfastes des antioxydants de synthèse (Belyagoubi, 2012).

CONCLUSION

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine pour l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique a connu un regain d'intérêt durant ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité, en propriétés biologiques, est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives, synthétisées par la plante comme des agents thérapeutiques. Ces molécules naturelles phénoliques sont très recherchées en phytothérapie vue les effets secondaires des médicaments et les séquelles néfastes des antioxydants de synthèse.

Dans le but de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressé à l'évaluation de l'activité antioxydante des trois extraits (méthanolique, acétate d'éthyle et butanolique de la partie aérienne de deux plantes endémiques, à savoir : *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis*.

La détermination des rendements en extraits bruts a montré une rentabilité importante chez les deux espèces. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait butanolique de *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis* ont manifesté un bon rendement avec 68% et 20,68% respectivement, alors que le rendement² le plus faible a été 7,4% d'extrait méthanolique de *T. algeriensis*.

La quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en polyphénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu et en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus nous ont révélé que l'extrait riche en polyphénols est l'extrait acétate d'éthyle pour les deux espèces, ainsi que les extraits riches en flavonoïdes sont l'extrait butanolique de *L. antineae* et l'extrait acétate d'éthyle de *T. algeriensis*.

Les potentialités antioxydants de l'extrait méthanolique et leurs fractions acétate d'éthyle et butanolique ont évalué par divers mécanismes ; piégeage du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur et capacité antioxydante totale, où le BHA, le BHT et l'acide ascorbique ont utilisé comme des standards. Les résultats *in vitro* ont révélé un fort pouvoir de piégeage du DPPH supérieur au standard BHT exercé par tous les extraits des deux plantes. La valeur IC₅₀ la plus basse a été constatée avec l'extrait méthanolique de *L.antineae* (1,62 mg/ml). Par ailleurs, tous les fractions ont manifesté un pouvoir réducteur ou la fraction butanolique du *T. algeriensis*, était la plus efficace.

Cette fraction arrive a réduit à l'absorbance 0,5 des molécules de fer à la dose de 0.19 mg/ml. Les fractions acétate d'éthyle et butanolique ont démontré une activité antioxydante totale important, constaté essentiellement pour les deux espèces. La fraction acétate d'éthyle de *T. algeriensis* a manifesté une capacité antioxydante maximale à l'absorbance 0,5 à la dose de 0,35mg/ml.

Il serait intéressant de procéder différentes méthodes d'extraction et de dosage afin d'avoir un rendement plus élevé. On pourrait également rechercher d'autres effets bénéfiques, de ces mêmes extraits, à savoir des activités antidiabétiques, anticancéreuses, cicatrisantes.

Ainsi déterminer des nouvelles substances bioactives naturelles et pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

**Références
bibliographiques**

A

Amin G., 2005. Popular medicinal plants of Iran. Tehran, Iran. Tehran university of medicinal sciences press.

B

Bakchiche B. et Gherib A. 2014. Antioxidant activities of polyphenols extracted from medicinal plants of the traditional pharmacopoeia of Algeria (9) : 167-172.

Balchin M. 2002. Medicinal and aromatic plants – industrial profiles. London and New York, p 24.

Belmokhtar. 2015. Identification et caractérisation des molécules du métabolisme secondaire de *Retama monosperma*. L Boiss, intérêt pharmaceutique. Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, 97p.

Balouiri M. 2011. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de plantes médicinales et aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques- Taounate. Mémoire Science et technique, université sidi Mohammed Ben Abdellah, 101p.

Beloued A. 2005. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires, Alger, p. 184, 196, 206.

Belyagoubi. B. N. 2012. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 174p.

Benabdelkader T. 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes aillées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt et pharmacologique. Thèse de doctorat d'état, Université Jean Monnet - Saint-Etienne; Ecole normale supérieure de Kouba (Alger), Français, 283p.

Bendif H. 2017. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques lamiaceae: *ajuga iva* (l.) schreb., *teucrium polium* l., *thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (boiss. & reut.) greuter & burdet et *rosmarinus eriocalyx* jord & fourr. Thèse de doctorat, Ecole normale supérieure de kouba-Alger, 154 p.

Bougandoura. et **Bendimerad.** 2012. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. 9 : 14-19.

Bougandoura N. et **Bendimerad N.** 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L) Briq. Nature et technologie 9 : 14-19.

Boughrara B. 2016. Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala. Thèse de doctorat, université badji mokhtar-annaba, 158p.

Bouhrab J. *Appl. Biosci.* 2014. Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Applied Biosciences 78 :6685-6693.

Bruneau M P. et **Quézel P.** 1961. Remarques taxonomiques et biogéographiques sur la flore des montagnes de la lisière méridionale du Sahara et plus spécialement du Tibesti et du Djebel Marra. In: Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée, vol. 8, n°4-5 : 110-133.

Bruneton J. 1993. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. La Voisier TEC et DOC, Paris. 2^{ème} édition, pp. 268-277.

Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, Paris: Tec & Doc Lavoisier, pp. 207-211.

Bruneton J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition, Lavoisier Tec et Doc, Paris. p 1240.

C

Collin S. and **Crouzet J.** 2011. Polyphénols et procédés. En France par EMP. S.S.A., Paris, p 5.

Crespo M.E., Gomis E., Jimenez J., Vavaro C. 1988. The essential oil of *Thymus serpylloides ssp gardorensis*. Planta medica, Vol. 2, pp 161-162.

D

Dangles O., Stoeckel C., Wigand MC., Brouillard R. 1992. Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. Tetrahedron Lett. 33: 5227-30.

Djeridane A., Yousfi M., Ndjemi B., Boutassouna D., Stocker P., and Vidal N. 2006. Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. Food chemistry 97: 654-660.

Djerroumi A. et Nacef M. 2004. 100 plantes médicinales d'Algérie. Palais du livre, pp 131-135.

Dutertre J.M. 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France, 33 p.

E

Echchengadda Gh et al. 2016. Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de *Lavandula autochtones* au Maroc : «*Lavandula stoechas L.* et *Lavandula dentata L.*». European scientific Journal 12(30) : 1857-7881.

El abed N., Guesmi F., Mejri M., Marzouki M N., Ben Hadj A S. 2014. Phytochemical screening and assessment of antioxidant, antibacterial and cytotoxicity activities of five Tunisian medicinal plants. International journal of pharmaceutical research and bio-science 3(4) : 770-789.

El-Haci. I. A. 2015. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales endémiques du sud de l'Algérie : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. Et Dur., *Anabasis aretioides* Moq. Et Coss. Et *Limoniatrium feei* (Girard) Batt. Thèse de doctorat, Université abou-bekr-belkaid tlemcen, 188p.

F

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies 331: 372-379.

Ferhat M. 2016. Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques des espèces : *Mentha aquatica*, *Stachys guyoniana* et *Thymus dreatensis* (LAMIACEAE). Thèse de doctorat, Université des freres mentouri-constantine, 212p.

G

Gherman C., Culea M., Cozar O. 2005. Comparative analysis of some active principes of Herb plants by gc/ms-talnata .91: 131-137.

H

Hopkins W G. 2003. Physiologie végétale. Traduction de la 2^{ème} édition, par Serge Rambour Révision scientifique de Charles-Marie Evrard, Américain, pp. 267-283.

Hubert. 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja – Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, École doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, 174p.

I

Ismaili R., Houbairi S., Lanouari S., Moustaid K., Lamiri A.2017. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines(13) : 1857-7431.

K

Kahlouche R F. 2014. Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse de doctorat, université de Constantine, 128p.

Kholkhal D., Lazouni H. A., Bendahou M., Boublenza I., Chabane S. D., Chaouch T. 2013. Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus ciliatus ssp coloratus* science 09(1) :151-158.

Kholkhal Fatima. 2014. Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Université abou-BekrB Belkaid-Tlemcen.

Krimat *et al.* 2014. Evaluation of phytochemicals, antioxydant and cytotoxic activities of *Lavandula antineae* maire endemic medicinal plant from Algeria. Pharmacology (6): 24-31.

L

Lee K. W., Kim Y. J., Lee J., Lee C. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. J. Agric. Food Chem 51:7292-7295.

Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L., Ming-Jiuan W. 2003. Antioxydant effect of methanol extracts from *Lotus Plumule* and Blossom (*Nelumbo nucifeca* Gertn), Journal of food and drug analysis, 11(1): 60-66.

Liuk L., Sun Y., Laura T., Liang X., Ye H., Zeng X. 2009. Determination of polyphenolic content and antioxydant activity of Kudingcha made from *Ilex Kudingcha* C.J. Tseng. Food chemistry. 112 : 35-4.

Lopes L., Daniela S., Alviano b., Celuta S., Alviano b, Paul P., Kolodziejczyk a. 2008. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxydant activities of artemisia essential oils. *Phytochemistry* 69 : 1732–1738.

M

Madi A.2010. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, 54p.

Meddour A., Yahia M., Benkiki1 N., Ayachi A. 2011. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal* 14(1):49-60.

Mohammedi Z. 2013. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat, Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, 169p.

N

Nathalie B. and Jean P. 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Génétique et physiologie forestières. Génétique et Physiologie Forestières*, p 79-82.

Nickavar B., Mojab F., Dolat-Abadi. 2005. Analysis of the essential oils of tow *Thymus* species from Iran-Food Chemistry. 90 : 609-611.

O

Ozenda P. 2004. Flore et végétation des Sahara. 3^{ème} édition, CNRS, Paris, p 662.

P

Prieto P., Piedad M., Aguel A. 1999. Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex : Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical biochemistry* 296 : 337-341.

Q

Quezel P., Santa S. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : C.N.R.S. p 786.

S

Singleton V.L., Rossi J.A.J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. 16 :144-58.

Su M.S., Shyu Y. T., Chien P.J. 2008. Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. *Food chemistry*. 111: 892-896.

T

Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarikürkcü C., Öztürk M. and Ulubelen A. 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry* 103 : 816-822.

Topçu G., Kusman T., 2014. Lamiaceae family plants as a potential anticholinesterase source in the treatment of Alzheimer's disease. *BezmialemSci.*, 1, 1-25.

V

Vu T D. 2008. Effets de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Datura innoxia* Mill. Cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotique et abiotiques. Thèse de doctorat, Ecole nationale supérieure d'agronomie et des industries alimentaires, 237p.

W

Wichtl M. and Anton r. 2009. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition lavoisier, Paris : p 38, 41.

Y

Yakhlef G. 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris L* et *Laurus nobilis L*. thèse de magister, université el hadj lakhdar batna, 110 p.

Yu R., Mandlekar S., Tony Kong A.N. 2000. "Molecular mechanisms of butylated hydroxyl anisole induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome c". *Molecular Pharmacology*, 58: 431- 437.

Z

Zaaror B. 2012. Etude photochimique de quelques extraits obtenus de la plante *Matricaria pubescens* (Artéacées) et évaluation de leur activité antioxydante. Mémoire de master académique, université kasdi merbah, ouargla, 66 p.

Zargari A. 1990. Medicinal plants. Tehran, Iran. Tehran university of medicinal sciences. Press. 4, 28-42.

Zeghib A. 2013. Etude phytichimique 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 1, 274p.

Les annexes

Annexes

Annexe 1 : Réactifs chimique et appareillages utilisé

Réactifs chimiques	Appareillage
2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH).	Agitateur.
Acide ascorbique.	Autoclave.
Acide gallique.	Balance de précision.
Acide sulfurique (H ₂ SO ₄).	Centrifugeuse.
Acide trichloroacétique (TAC).	Etuve.
BHA.	Évaporateur rotatif (Heidolopf).
BHT.	Spectrophotomètre (JENWAY, 6310).
Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃).	Vortex.
Chlorure ferrique (FeCl ₃)	
Ferricyanure de potassium K ₃ Fe(CN) ₆	
Hydroxyde de sodium (NaOH).	
Méthanol.	
Molybdate d'ammonium.	
Nitrite de sodium (NaNO ₃).	
Phosphate de sodium(Na ₃ PO ₄).	
Quercétine.	
Réactif de Folin-Ciocalteu.	
Tampon phosphate (pH 6,6).	
Trichlorure d'aluminium (AlCl ₃).	

Annexe 2 : préparation des solutions pour le dosage de polyphénols

- Solution de l'acide gallique

Dissoudre 1 mg d'acide gallique dans un volume de 1ml méthanol/eau (V/V : 80/20).

- Solution de Carbonate de sodium à 20%

Dissoudre 20g de Na₂CO₃ dans 100 ml de l'eau distillée.

- Solution de Folin-Ciocalteu

Diluée au (1/10), puis préparé dans l'eau distillée

Annexe 3 : préparation des solutions pour le dosage des flavonoïdes

- Solution de quercétine

Dissoudre 1 mg de quercétine dans un volume de 1ml méthanol/eau (V/V : 70/30).

- Solution de nitrite de sodium à 5%

Dissoudre 5g de NaNO_3 dans 100 ml de l'eau distillée

- Solution de Trichlorure d'aluminium à 10%

Dissoudre 10g d' AlCl_3 dans 100 ml de l'eau distillée.

- Solution d'hydroxyde de sodium à 4%

Dissoudre 4 g de NaOH dans 100 ml de l'eau distillée.

Annexe 4 : Préparation du DPPH à 0,025 g/l

- Solution de DPPH à 0,025 g/l : dissoudre 2,5 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol/eau (V/V : 80/20).
- Solution d'extrait mère à 1mg/ml : 1mg d'extrait dans 1ml de méthanol/eau (V/V : 80/20).

Annexe 5 : Préparation des solutions pour le pouvoir réducteur

- Préparation de tampon phosphate à pH=6,6

- Solution de di-hydrogénophosphate de potassium

KH_2PO_4 : 9,08 g/150 ml d'eau distillé.

- Solution de di-sodium hydrogénophosphate

Na_2HPO_4 : 9,47 g/100 ml d'eau distillé.

Mélanger 74,5 ml Na_2HPO_4
avec 125,5 ml KH_2PO_4 , jusqu'à
PH 6,6.

- Solution Des standards BHA et BHT

- Dissoudre 3,2 mg de BHA ou BHT dans un volume de 1ml méthanol/eau (V/V : 80/20).

- Solution ferricyanure de potassium à 1%

Dissoudre 1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans un volume de 100ml d'eau distillée.

- Solution d'acide trichloracétique à 10%

Dissoudre 10 g de TAC dans un volume de 100ml d'eau distillée.

- Solution alcoolique de chlorure ferrique à 0,1%.

Dissoudre 0,1 g de FeCl_3 dans un volume de 100ml d'eau distillée.

Annexe 6 : préparation des solutions pour la capacité antioxydante totale

- Solution d'acide sulfurique (0,6mM)

Pour préparer la solution d'acide sulfurique, il faut calculer le volume initiale puis ajouter l'eau distillé jusqu' à le volume finale.

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2 \times M}{d \times 10^3 \times P} \quad \dots \rightarrow \quad V_1 = \frac{0,6 \times 0,03 \times 98,08}{1,840 \times 10^3 \times 0,95}$$

Donc : $V_1 = 1,0099 \text{ ml.}$

- **Solution de phosphate de sodium (28 mM)**

- Pour préparer une solution de phosphate de sodium, il faut premièrement calculer sa masse.

On a: $C = 28 \text{ Mm} \quad \dots \rightarrow \quad C = 0,028 \text{ mol/l.}$

$M = 119,98 \text{ g/mol.}$

$V = 0,03 \text{ ml.}$

$n = C \times V = m/M, \quad \text{Donc } m = C \times V \times M \quad \dots \rightarrow \quad m = 0,028 \times 0,03 \times 119,98$

Donc : $m = 0,10078 \text{ g.}$

Puis Dissoudre 0,10078 g de Na_3PO_4 dans un volume de 30ml d'eau distillée.

- **Solution de molybdate d'ammonium (4 mM)**

- Pour préparer une solution de molybdate d'ammonium, il faut calculer sa masse.

On a: $C = 4 \text{ Mm} \quad \dots \rightarrow \quad C = 0,004 \text{ mol/l.}$

$V = 0,03 \text{ ml}$

$$M = 1235,86 \text{ g/mol}$$

$$n = C \times V = m/M \quad \text{Donc } m = C \times V \times M \quad \text{----->} \quad m = 0,004 \times 0,03 \times 1235,86$$

Donc :

$$m = 0,14830 \text{ g.}$$

Puis Dissoudre 0,14830 g de molybdate d'ammonium dans un volume de 30ml d'eau distillée.

M : la masse molaire ; **m** : la masse ; **d**: la densité ; **C** : la concentration ; **V** : le volume ; **P** : la pureté.

Finalement pour préparer le tampon molybdate, on mélange les trois volumes de chaque solution (acide sulfurique, phosphate de sodium et molybdate d'ammonium)

ملخص

في إطار اكتشاف مواد جديدة مضادة للأكسدة من المصادر الطبيعية كنا مهتمين في هذا العمل بتقييم كمية المركبات الفينولية و الخصائص المضادة للأكسدة لمستخلصات كلا من *Lavandula antineae* و *Thymus algeriensis*. يعتني الجزء الأول من هذه الدراسة باستخراج و تقييم كمية الفينولات الكلية و الفلافونويدات. أما الجزء الثاني فهو يخص دراسة نشاط مضادات الأكسدة لمستخلصات النباتين باستخدام التقنيات التالية: محاصرة الجذر•DPPH , إرجاع الحديد و إجمالي القدرة المضادة للأكسدة. النتائج التي تم الحصول عليها تظهر ثراء *T.algeriensis* و *L. antineae* بالبوليفينول و بالفلافونويدات من اثنين من الكسور خلات الإيثيل و البوتانول.

تظهر اختبارات النشاط المضاد للأكسدة أن كل المستخلصات النباتية المدروسة تظهر خصائص مختلفة مضادة للأكسدة. يحتوي جزء خلات الإيثيل من *T. algeriensis* له تأثير مسح قوي للجذور DPPH فيما يتعلق *L.antineae*. يقدر ما أظهرت مقتطفات البوتانول و خلات الإيثيل من *T. algeriensis* أقوى قوة خفض فيما يتعلق باختبارات FRAP و TAC على التوالي.

الكلمات المفتاحية : *Thymus algeriensis* , *Lavandula antineae* , البوليفينول , الفلافونويدات , النشاطات المضادة للأكسدة .

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous avons intéressé dans ce travail à l'évaluation des teneurs en composés phénoliques et les propriétés antioxydants des extraits des deux plantes *Lavandula antineae* et *Thymus algeriensis*. La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes. La deuxième partie a été l'étude de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes en utilisant les techniques suivantes : piégeage du radical DPPH, réduction de fer et la capacité antioxydante totale. Les résultats obtenus ont montré la richesse de *L. antineae* et *T. algeriensis* en polyphénols et en flavonoïdes des deux fractions acétate d'éthyle et butanolique.

Les méthodes de l'activité antioxydante ont montré que tous les extraits des plantes étudiées ont présenté différentes propriétés antioxydantes . La fraction acétate d'éthyle de *T. algeriensis* possède un fort effet piègeur des radicaux DPPH par rapport *L. antineae*. Autant que les extraits butanolique et acétate d'éthyle de *T. algeriensis* a présenté le pouvoir réducteur le plus fort vis-à-vis des tests FRAP et TAC respectivement.

Mots clés : *Lavandula antineae*, *Thymus algeriensis*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydants.

Abstract

As part of the discovery of new antioxidants from natural sources, we have investigated in this work the evaluation of phenolic compounds and the antioxidant properties of extracts of both plants *Lavandula antineae* and *Thymus algeriensis*. The first part of this study concerns the extraction and quantification of total polyphenols and flavonoids. The second part was the study of the antioxidant activity of extracts of both plants using the following techniques: DPPH radical scavenging, iron reduction and total antioxidant capacity. The results obtained showed the richness of *L. antineae* and *T. algeriensis* in polyphenols and flavonoids of the two fractions ethyl acetate and butanol.

The methods of antioxidant activity showed that all the extracts of the plants studied had differently antioxidant properties. The ethyl acetate fraction of *T. algeriensis* has a strong scavenging effect of the DPPH radicals relative to *L. antineae*. As much as the butanolic and ethyl acetate extracts of *T. algeriensis* showed the strongest reducing power with respect to the FRAP and TAC tests respectively.

Keywords: *Lavandula antineae*, *Thymus algeriensis*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity.