

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

POUR OBTENIR LE DIPLÔME DE  
**Doctorat en Sciences**

**Spécialité : Biologie**

**Option : Biochimie**

**Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles et  
extraits phénoliques de deux espèces de la famille des *Lamiaceae***

**Par :**

**Benabed Khadidja Houda**

Soutenu le 09 Mai 2018 devant le jury composé de :

M. OULD ELHADJ Mohamed Didi	Pr	Université Kasdi Merbah – Ouargla	Président
M <sup>me</sup> . BOUDJENAH Saliha	MCA	Université Kasdi Merbah – Ouargla	Examinatrice
M. HADJ MAHAMMED Mahfoud	Pr	Université Kasdi Merbah – Ouargla	Examineur
M. BOUTAÏBA Saad	MCA	Université Ziane Achour – Djelfa	Examineur
M. OUINTEN Mohamed	Pr	Université Amar Thélidji – Laghouat	Examineur
M. YOUSFI Mohamed	Pr	Université Amar Thélidji – Laghouat	Directeur de thèse

## *Dédicaces*

*Pour*

*Mes chers parents,*

*Mes frères et sœurs,*

*Mes nièces et neveux.*

## **Remerciements**

*Ce travail a été réalisé au laboratoire des sciences fondamentales à l'université Amar Thélidji de Laghouat, je remercie monsieur Yousfi Mohamed, directeur du laboratoire, ainsi que tous les membres du laboratoire.*

*Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.*

*Je tiens à remercier sincèrement M. Yousfi Mohamed, Directeur de cette thèse, pour l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer, pour sa générosité et la grande patience dont il a su faire preuve malgré ses charges académiques et professionnelles et sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour.*

*Je remercie également M. Gourine Nadhir, pour être toujours disponible pour m'avoir aidé lors de la réalisation des analyses de données de ce travail.*

*Je tiens aussi à remercier M<sup>me</sup> Isabelle Bombarda du laboratoire d'instrumentation et de sciences analytiques (Marseille, France) pour sa générosité et son aide précieuse pour les analyses CPG des huiles essentielles.*

*Mes remerciements s'adressent également aux membres de jury, qui ont bien accepté d'évaluer mon travail. Je remercie monsieur OULD ELHADJ Mohamed Didi pour avoir accepté la présidence de jurys de ma soutenance de thèse.*

*Je tiens aussi à remercier les examinateurs monsieur HADJ MAHAMMED Mahfoud et madame BOUDJENAH Saliha de l'université Kasdi Merbah-Ouargla, monsieur Boutaiba Saad*

*de l'université Ziane Achour-Djelfa, et monsieur Ouinten mohamed de l'université Amar Thélidji-Laghouat.*

*Mes profonds remerciements sont adressés pour mes amies et collègues : Boussoussa Hadjer, Khacheba Ihen et Boukhalkhal Sara pour leur aide précieuse durant ma pratique et leurs encouragements continus. Merci infiniment.*

*Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce travail.*

*Merci à tous et à toutes.*

## Résumé

Ce travail a pour objectif l'étude de la composition chimique ainsi que les activités biologiques des huiles essentielles et extraits phénoliques de deux espèces de la famille des *Lamiaceae* : *Saccocalyx satureioides* et *Thymus vulgaris*. Les huiles essentielles de ces plantes ont été obtenues par hydrodistillation de la partie aérienne. Les teneurs en huiles essentielles se situent entre 1,01%, pour *Saccocalyx satureioides* et 3,97% (m/m) pour *Thymus vulgaris*. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) seule et couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) a révélé que l' $\alpha$ -terpinéol est le composé majoritaire pour les différents échantillons de *S. satureioides*, le  $\gamma$ -terpinène et le carvacrol pour *T. vulgaris*. L'analyse par HPLC/SM des extraits phénoliques de *S. satureioides* a révélé la présence de l'acide rosmarinique, l'acide caffeique, l'acide isomelitrique, l'eriodictyol, le tetrahydroxyisoflavone-O-hexoside, l'isoscutellarein-7-O-allosyl (1-2) glucose, le kaempferol-methoxy-methylether et le cirsimaritin. Pour les extraits de *T. vulgaris*, on note la présence d'eriodictyol-O-hexoside au niveau de l'échantillon T1, alors que l'échantillon T2 était caractérisé par la présence d'acide rosmarinique. Les extraits de *T. vulgaris* ont été aussi caractérisés par la présence des composés suivants : l'acide caffeique, l'isoscutellarein-7-O-allosyl (1-2) glucose, l'eriodictyol, l'acide isomelitrique, ainsi que le 3-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone et le cirsimaritin pour les extraits de T1. Les activités antioxydantes des huiles essentielles et des extraits phénoliques ont été évaluées par les tests : DPPH, Molybdate-Phosphate,  $\beta$ -carotène, CUPRAC, FRAP et ABTS. Les résultats obtenus ont montré que les huiles essentielles testées possèdent un bon pouvoir réducteur et une activité anti-radicalaire moyens ou parfois négligeable en comparaison aux antioxydants de références utilisées, alors que les extraits phénoliques ont montré des activités plus fortes.

## Mots clés

*Saccocalyx satureioides*, *Thymus vulgaris*, huile essentielle, extraits phénoliques, activité antioxydante.

## **Abstract**

This work aims to study the chemical composition and biological activities of essential oils and phenolic extracts of two species of the *Lamiaceae* family: *Saccocalyx satureioides* and *Thymus vulgaris*. The essential oils of these plants were obtained by hydrodistillation of the aerial part. The levels of essential oils are between 1.01% for *Saccocalyx satureioides* and a 3.97% (m/m) for *Thymus vulgaris*. Gas chromatographic (GC) and GC (mass spectroscopy) analysis revealed that  $\alpha$ -terpineol is the major compound for the different *S. satureioides* samples,  $\gamma$ -terpinene and carvacrol for *T. vulgaris*. HPLC analysis of phenolic extracts of *S. satureioides* revealed the presence of rosmarinic acid, caffeic acid, isomelic acid, eriodictyol, tetrahydroxyisoflavone-O-hexoside, isoscutellarein-7-O -allosyl (1-2) glucose, kaempferol-methoxy-methylether and cirsimaritin. For the extracts of *T. vulgaris*, the presence of eriodictyol-O-hexoside in the T1 sample is noted, whereas the T2 sample was characterized by the presence of rosmarinic acid. Extracts of *T. vulgaris* were also characterized by the presence of the following compounds: caffeic acid, isoscutellarein-7-O-allosyl (1-2) glucose, eriodictyol, isomelic acid, as well as 3-hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone and cirsimaritin for T1 extracts. The antioxidant activities of the oils and phenolic extracts were carried out using the tests: DPPH, Phosphomolybdenum,  $\beta$ -carotene, CUPRAC, FRAP and ABTS. The results obtained showed that the essential oils have a moderate reducing power and anti-radical activity, and this by comparing with the reference antioxidants used, while the phenolic extracts showed stronger activities.

**Key words:** *Saccocalyx satureioides*, *Thymus vulgaris*, essential oil, phenolic extracts, antioxidant activity.

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للأوكسدة للزيوت العطرية والمستخلصات الفينولية لنبتين من عائلة الشفويات: *Saccocalyx satureioides* (زعر الرمل) ، و *Thymus vulgaris* (زعر الجبل). تم إستخلاص الزيوت العطرية بواسطة التقطير المائي للأجزاء العلوية لهذه النباتات. أظهرت النتائج أن مردودية هذه النباتات تتراوح بين 1.01% لنبته زعر الرمل و 3.97% بالنسبة لنبته زعر الجبل (T2) ، كما أظهرت نتائج التحليل الكروماتوغرافي الغازي بالتزاوج مع مطيافية الكتلة (GC/SM) أن مركب  $\alpha$ -terpineol هو المركب الرئيسي لمختلف عينات نبته زعر الرمل، و مركبي  $\gamma$ -terpinene و carvacrol لعينتي زعر الجبل كشف تحليل المستخلصات الفينولية لزعر الرمل تواجد المركبات التالية : l'acide rosmarinique, l'acide caffeique, l'acide isomelitrique, l'eriodictyol, le tetrahydroxyisoflavone-O-hexoside, l'isoscutellarein-7-O-allosyl (1-2) glucose, le kaempferol-acide methoxy-methylether et le cirsimaritin. أما بالنسبة لزعر الجبل، فقد بينت التحاليل وجود المركبات : l'isoscutellarein-7-O-allosyl (1-2) / acide caffeique/eriodictyol-O-hexoside/rosmarinique 3-hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone /eriodictyol, l'acide isomelitrique/glucose أجريت الأنشطة المضادة للأوكسدة للزيوت والمستخلصات الفينولية باستخدام الاختبارات : إختبار تثبيط الجذور الحرة DPPH وإختبار الفوسفوموليبيدات،  $\beta$ -carotene ، CUPRAC ، FRAP و ABTS . كشفت النتائج أن الزيوت العطرية لها قدرة ارجاعية و نشاط في تثبيط الجذور الحرة متوسطة مقارنة بمضادات الأوكسدة المرجعية ، في حين أظهرت المستخلصات الفينولية نشاط أقوى.

## الكلمات المفتاحية

زعر الرمل، زعر الجبل، الزيوت العطرية، المستخلصات الفينولية، النشاط المضاد للأوكسدة.

## *Table des matières*

Liste des tableaux .....	i
Liste des figures .....	ii
Liste d'abréviations .....	iv
Introduction .....	01
<b>Partie bibliographique</b>	
I. L'importance des plantes à travers l'histoire humaine.....	05
II. Les métabolites secondaires .....	05
III. Les huiles essentielles .....	07
III.1. La chimie des huiles essentielles .....	07
III.1.1. Les différentes catégories des composés des huiles essentielles .....	07
III.2. Les propriétés des huiles essentielles .....	10
III.2.1. L'activité antimicrobienne.....	10
III.2.2. L'activité antioxydante .....	10
III.2.3. Autres activités .....	11
IV. Les composés phénoliques.....	11
IV.1. La classification des composés phénoliques.....	11
IV.1.1. Les phénols simples .....	12
IV.1.2. Les flavonoïdes.....	12
IV.1.3. Les acides phénoliques .....	13
IV.1.4. Les formes condensées.....	14
IV.2. Les propriétés des composés phénoliques.....	15
IV.2.1. L'activité antimicrobienne.....	15
IV.2.2. L'activité antioxydante .....	15
IV.2.3. Autres activités .....	15
V. Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène.....	16



V.1. Les conséquences de génération des radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène.....	17
VI. Le pouvoir antioxydant.....	18
VII. L'activité antioxydante des plantes .....	19
VIII. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	20

## **Matériels et méthodes**

I. Matériel biologique .....	22
I.1. Plantes étudiées .....	22
I.1.1. Les caractéristiques botaniques des plantes étudiées .....	22
II. Les méthodes expérimentales .....	23
II.1. L'extraction .....	23
II.1.1. L'extraction des huiles essentielles.....	23
II.1. 2. L'extraction des composés phénoliques.....	23
II. 2. La quantification des composés phénoliques .....	24
II.2. 1. Le dosage des phénols totaux.....	24
II.2.2. Le dosage des flavonoïdes.....	25
II.3. La Composition chimique des extraits .....	25
II.3.1. La Composition chimique des huiles essentielles .....	25
II.3.1.1. Chromatographie phase gazeuse.....	25
II.3.1.2. Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	26
II.3.1.3. Identification des composés .....	26
II.3.2. La composition chimique des extraits phénoliques .....	26
II. 4. L'évaluation de l'activité antioxydante.....	27
II.4.1. L'activité antioxydante des huiles essentielles.....	27
II.4.1.1. Le test du DPPH.....	27
II.4.1.2. Le test de $\beta$ -carotène .....	28
II.4.1.3. Le test de réduction de cuivre (CUPRAC) .....	29
II.4.2. L'activité antioxydante des composés phénoliques.....	30

II.4.2.1. Le test du DPPH.....	30
II.4.2.2. Le test d'ABTS.....	30
II.4.2.3. Le test du molybdate phosphate .....	31
II.4.2.4. Le test de réduction de cuivre (CUPRAC).....	31
II.4.2.5. Le test de FRAP.....	31
II.5. Analyse statistique.....	32
<b>Résultats et discussions</b>	
I. Les teneurs des extraits .....	34
I.1. Les teneurs en huiles essentielles.....	34
I.2. Les teneurs en extraits bruts.....	35
II. La quantification des composés phénoliques .....	35
II.1. Le dosage des phénols totaux.....	35
II.2. Le dosage des Flavonoïdes.....	37
III. La composition chimique des extraits.....	40
III. 1. La composition chimique des huiles essentielles .....	40
III.2. Tentative d'identification des composés phénoliques dans les extraits.....	47
IV. L'activité antioxydante .....	55
IV.1. L'activité antioxydante des huiles essentielles.....	55
IV.1.1. Le test du DPPH.....	55
IV.1.2. Le test de $\beta$ -carotène .....	57
IV.1.3. Le test de réduction de Cuivre.....	57
IV.2. L'activité antioxydante des composés phénoliques.....	60
IV.2.1. Le test du DPPH.....	60
IV.2.2. Le test d'ABTS.....	61
IV.2.3. Le test du molybdate phosphate.....	64
IV.2.4. Le test de réduction de cuivre (CUPRAC).....	65
IV.2.5. Le test de FRAP.....	66

Conclusion et perspectives.....	70
Références bibliographiques .....	73
Annexe .....	84

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b> : La classification des composés des huiles essentielles.....	08
<b>Tableau 2</b> : Les composés antioxydants majeurs des cellules.....	18
<b>Tableau 3</b> : Les tests les plus utilisés pour évaluer l'activité antioxydante .....	20
<b>Tableau 4</b> : Les plantes étudiées : leurs noms scientifiques et communs ainsi que les informations de récolte .....	22
<b>Tableau 5</b> : Teneurs en huiles essentielles des plantes étudiées.....	34
<b>Tableau 6</b> : Teneurs des extraits bruts (%)......	35
<b>Tableau 7</b> : Teneurs en phénols totaux (mg EAG/g MS) .....	36
<b>Tableau 8</b> : Teneurs en flavonoïdes (mg ER/g MS) .....	37
<b>Tableau 9</b> : Composition chimique des différents échantillons d'huiles essentielles analysées par CG/SM .....	42
<b>Tableau 10</b> : Les composés majoritaires des HE de quelques espèces de lamiacées.....	44
<b>Tableau 11</b> : Composition chimique des extraits phénoliques.....	50
<b>Tableau 12</b> : IC <sub>50</sub> des différents échantillons d'huiles essentielles (Test DPPH).....	55
<b>Tableau 13</b> : Les valeurs des IC <sub>50</sub> des différents échantillons d'huiles essentielles (Test β-carotène) .....	57
<b>Tableau 14</b> : Les valeurs d'AAEC des différents échantillons d'huiles essentielles (test CUPRAC) .....	58
<b>Tableau 15</b> : Les valeurs des IC <sub>50</sub> des différents extraits phénoliques pour le test DPPH (µg extrait brut/ml) .....	60
<b>Tableau 16</b> : Les valeurs des IC <sub>50</sub> des différents extraits phénoliques pour le test d'ABTS (µg extrait brut/ml) .....	62
<b>Tableau 17</b> : Corrélations entre les IC <sub>50</sub> et les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes.....	63
<b>Tableau 18</b> : Les valeurs d'AAEC des différents extraits phénoliques (Test Molybdate-Phosphate).....	65
<b>Tableau 19</b> : Les valeurs d'AAEC des différents extraits phénoliques (test CUPRAC)....	66
<b>Tableau 20</b> : Les valeurs d'AAEC des différents échantillons (test FRAP).....	67

<b>Tableau 21</b> : Corrélations entre les AAEC et les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes .....	69
--	----

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b> : Formule semi développé de la molécule isoprène.....	08
<b>Figure 2</b> : Principales classes des flavonoïdes.....	12
<b>Figure 3</b> : Structures chimiques des acides phénoliques .....	13
<b>Figure 4</b> : Exemples de structures chimiques des Tannins.....	14
<b>Figure 5</b> : Sources endogènes des espèces réactives d'oxygène.....	17
<b>Figure 6</b> : Les structures chimique du radical libre di-phenyl-picrylhydrazyl (DPPH)...	27
<b>Figure 7</b> : La réaction CUPRAC et le complexe Cu-néocuproïne.....	29
<b>Figure 8</b> : La réaction FRAP et le complexe Fe <sup>3+</sup> -TPTZ .....	32
<b>Figure 9</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	36
<b>Figure 10</b> : Courbe d'étalonnage de la rutine .....	37
<b>Figure 11</b> : Histogramme représentant le pourcentage des Flavonoïdes dans les différents extraits.....	51
<b>Figure 12</b> : Corrélations entre les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des différents extraits .....	39
<b>Figure 13</b> : Dendrogramme de la classification ascendante hiérarchique CAH.....	45
<b>Figure 14</b> : Analyse en composantes principales .....	46
<b>Figure 15</b> : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon S1 (système MeOH/H <sub>2</sub> O) à 280nm.....	53
<b>Figure 16</b> : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon S2 (système MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O) à 280nm.....	53

<b>Figure 17</b> : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon T1 (système MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O) à 280nm.....	54
<b>Figure 18</b> : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon T2 (système MeOH/H <sub>2</sub> O) à 280nm.....	54
<b>Figure 19</b> : Relation entre le pouvoir piégeur des radicaux libres DPPH et la composition en huiles essentielles.....	56
<b>Figure 20</b> : Relation entre l'activité antioxydante et le composition en huiles essentielles	59
<b>Figure 21</b> : Comparaison entre les valeurs des IC <sub>50</sub> des tests DPPH et ABTS.....	62
<b>Figure 22</b> : Comparaison entre les valeurs des AAEC des tests CUPRAC, FRAP et Molybdate.....	68

## Liste d'abréviations

AAEC	: Ascorbic acid Antioxidant Equivalent Capacity
Acé/H <sub>2</sub> O	: Acétone/Eau
BHA	: Butylhydroxyanisole
CG-SM	: Chromatographie phase Gazeuse couplé avec Spectroscopie de Masse
CPG	: Chromatographie phase Gazeuse
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
IC <sub>50</sub>	: Concentration inhibitrice à 50%
FID	: Détecteur à ionisation de flamme
HE	: Huile essentielle
I%	: Pourcentage d'inhibition
MeOH/H <sub>2</sub> O	: Méthanol /Eau
MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O	: Méthanol/Acétone/Eau
SM	: Spectrométrie de masse
UHPLC-DAD-ESI	: Ultra-High-Performance-Liquid-Chromatography-Diode-Array-Detector-Electro-Spray-Ionisation
FRAP	: Ferric Reducing Ability of Plasma
CUPRAC	: Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity
ERO	: Espèces Réactives d'Oxygène

# *Introduction*



## INTRODUCTION

Pour soigner ses maux, l'homme s'est penché sur les plantes. Ces dernières ont toujours constitué la base des systèmes de la médecine traditionnelle, depuis des milliers d'années et continuent jusqu'à présent à nous fournir de nouveaux remèdes (**Gurib-Fakim, 2006**). Le règne végétal est une bonne source de préparations naturelles contenant des composés bioactifs efficaces qui peuvent être utilisés pour différentes applications, en particulier en tant qu'additifs alimentaires (**Ložienė et al., 2007**).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a enregistré 55 millions de décès dans le monde en 2011 et a déclaré que les maladies infectieuses étaient responsables d'un tiers de tous ces décès. Cette situation est aggravée par le nombre croissant de microorganismes pathogènes résistants à l'antibiothérapie, qui sont capables de se rétablir et de survivre après l'exposition aux antibiotiques grâce à leur capacité à acquérir et transmettre la résistance (**Nabavi et al., 2015**). C'est pour cette raison que l'intérêt des recherches récentes est porté sur le développement de nouveaux agents antimicrobiens, et ceci d'origine naturels.

D'autre part, il y a une demande croissante d'antioxydants naturels en raison des préoccupations de sécurité pour les antioxydants synthétiques, en plus la préférence des consommateurs pour les produits naturels, et l'utilisation de moins d'additifs dans les produits alimentaires. En raison de leurs composants antioxydants naturels, les plantes sont d'excellentes sources d'antioxydants pour la conservation des aliments. Il existe des avantages supplémentaires de l'utilisation d'antioxydants naturels comprenant leurs bienfaits pour la santé et qu'ils peuvent être facilement assimilés par le corps. D'autre part, les antioxydants synthétiques peuvent avoir des effets indésirables chez l'homme et ne pas apporter d'avantages nutritionnels supplémentaires (**Embuscado, 2015**).

Un grand nombre d'espèces végétales appartenant à la famille des *Lamiaceae* représentent une source d'une grande variété de métabolites secondaires, tels que les huiles essentielles, les acides phénoliques, les flavonoïdes ou les terpènes phénoliques. Ces composés sont largement reconnus pour leurs activités biologiques, et ont récemment été exploités dans d'autres secteurs importants comme les industries cosmétiques, alimentaires et des pesticides. Ces molécules constituent des ingrédients prometteurs pour développer de nouveaux produits en raison de leurs activités biologiques et de leur durabilité écologique (**Trivellini et al., 2016**).

Le présent travail est une continuité d'un travail déjà entrepris sur les espèces *Thymus vulgaris*, *Thymus algeriensis* et *Mentha pulegium* locales où nous avons valorisé leurs huiles essentielles vis-à-vis des activités antioxydante et antimicrobiennes (**Benabed, 2011**). Il nous a donc paru intéressant de continuer notre travail sur d'autres espèces de la même famille afin de les valoriser et de confirmer les résultats déjà obtenus lors de nos travaux antérieurs. Nous nous sommes intéressés dans cette étude principalement à l'espèce *Saccocalyx satureioides* qui est une espèce endémique en Algérie, et que peu de travaux scientifiques sont intéressés à l'étude de ses métabolites ainsi que leurs activités biologiques.

La thèse comprend trois chapitres :

Le premier chapitre est relatif à un aperçu bibliographique débutant par une illustration de l'utilisation des plantes médicinales à travers l'histoire. Elle est suivie par des notions sur les huiles essentielles, et les composés phénoliques, leurs constituants chimiques, ainsi que leurs propriétés, à savoir l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne, l'activité antivirale ...etc.

Le deuxième chapitre, consiste en une présentation détaillée du matériel et des méthodes expérimentales (protocoles) utilisés dans ce travail :

- L'extraction des huiles essentielles et composés phénoliques et l'identification de leurs constituants chimiques ;
- L'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits, en utilisant les tests : le piégeage du radical libre DPPH, le test du Molybdate-Phosphate, le test de  $\beta$ -carotène, le test de FRAP, le test d'ABTS et le test de CUPRAC ;

Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats ainsi que leurs interprétations et discussion.

L'ensemble des résultats et des perspectives sont regroupés dans une conclusion générale à la fin de la thèse.

*Chapitre I : Aperçu  
bibliographique*

## I. L'importance des plantes à travers l'histoire humaine

A travers l'histoire, l'Homme s'est basé sur les plantes pour ses besoins basiques comme l'alimentation, l'abri et l'habillement. Les plantes ont été utilisées, aussi, pour des fins traditionnelles, comme des poisons, dans la chasse, des hallucinogènes, des stimulants ainsi que des médicaments (**Salim et al., 2008**).

L'Homme utilise les plantes médicinales pour traiter les maladies depuis des millénaires. Il semble qu'il y a 60000 ans, les Néandertaliens appréciaient les vertus thérapeutiques des plantes (**Small et Catling, 2000**). En Chine, le *Ginseng*, le *Rhubarb* et le *Ma-Huang* ont été utilisés depuis au moins 5000 ans. Les égyptiens avaient une bonne connaissance des remèdes d'origine naturelle, le Papyrus Ebers, 1550 avant J.C., a mentionné l'*Aloe* et le *Myrrha*. Hippocrate (460-377 avant J.C.), appelé le père de la médecine, a utilisé un grand nombre de plantes comme remèdes naturels. Au cours du premier siècle après J.C., Dioscoride décrit dans son ouvrage "*De Materia Medica*" environ 500 plantes médicinales : leurs origines botaniques, leurs productions et utilisation. Ce livre et les œuvres de Galien (2<sup>ème</sup> siècle après J.C.) ayant utilisé plusieurs centaines de plantes médicinales, ont dominé jusqu'au moyen âge, lorsque la connaissance de plantes médicinales a été maintenue de deux façons : par les musulmans et par les moines chrétiens, qui cultivaient les épices et les plantes médicinales dans les jardins des monastères (**Sandberg et Corrigan, 2004**).

Jusqu'au 18<sup>ème</sup> siècle, les professions de médecin et de botaniste étaient étroitement liées. En effet, les premiers jardins botaniques modernes, qui ont vu le jour au 16<sup>ème</sup> siècle, en Italie, à Pise, Padoue et Florence, étaient des jardins de plantes médicinales rattachées à des écoles ou des facultés de médecine (**Small et Catling, 2000**).

## II. Les métabolites secondaires

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des combinaisons de produits chimiques appelés métabolites secondaires. C'est pour cela que l'action thérapeutique des plantes est unique, pour une espèce particulière (**Briskin, 2000**). Les métabolites secondaires se rencontrent, seulement, dans des organismes spécifiques, ou bien un groupe d'organismes. Elles représentent une expression de l'individualité des espèces (**Dewick, 2009**).

Les métabolites secondaires des végétaux, également appelés produits naturels ou métabolites spécialisés, constituent un énorme réservoir de biodiversité chimique. Plus de 200000 structures chimiques diverses ont été identifiées. En comparaison avec les métabolites primaires, qui sont essentiels à la croissance et au développement des plantes, les métabolites secondaires jouent un rôle crucial dans les plantes et font également partie intégrante de la communication d'une plante avec son environnement (**Kutchan *et al.*, 2015**).

Verpoorte et Alferman (**Verpoorte et Alferman, 2000**) proposent la définition suivante : "Les métabolites secondaires sont des composés avec une présence limitée dans les groupes taxonomiques de plantes, et qui ne sont pas nécessaires à la survie de la cellule, mais jouent un rôle dans l'interaction de la cellule avec son environnement, en assurant la survie de l'organisme dans son écosystème". Cette interaction prend de nombreuses formes, il peut s'agir d'une accumulation de pigments dans les pétales de fleurs ou d'une libération de produits chimiques volatils par les fleurs pour attirer les pollinisateurs. Il peut également être la libération par les racines des métabolites secondaires dans la rhizosphère pour attirer des micro-organismes bénéfiques pour le sol (**Kutchan *et al.*, 2015**).

Les métabolites secondaires ne sont pas produits sous toutes les conditions. Dans la plupart des cas, leurs fonctions et intérêts pour l'organisme ne sont pas encore connues. Certaines de ces substances sont produites, pour des raisons défensives, contre les prédateurs, d'autres comme des agents volatils attracteurs pour la même espèce ou une espèce différente, ou bien comme des agents colorés pour attirer ou avertir les autres espèces (**Dewick, 2009**). Quelle que soit la raison de la présence de ces composés dans la nature, ils fournissent des ressources précieuses utilisées pour trouver de nouveaux médicaments (**Gurib-Fakim, 2006**).

Tout les processus de synthèse des métabolites par les végétaux commencent par la photosynthèse qui donne des molécules de carbohydrates. Ces dernières sont dégradées en acide pyruvique, qui sera oxydé en acétate. Par condensation, l'acétate va donner des acides gras ou bien de l'acide mévalonique qui donnera les mono, di et sesquiterpènes qui sont des ingrédients des huiles essentielles ; aussi les triterpenoïdes et les tetraterpenoïdes et les stéroïdes. A partir de précurseurs des carbohydrates, une autre voie métabolique va donner l'acide shikimique, puis l'acide gallique et les tannins. L'acide shikimique est la molécule de départ, et via l'acide chorismique nous donne les composés aromatiques : acides aminés et phénols (**Sandberg et Corrigan, 2001**).

Les métabolites secondaires peuvent être classées en plusieurs groupes en fonction de leurs classes chimiques, on distingue : les alcaloïdes, les terpenoïdes, et les composés phénoliques (Salim *et al.*, 2008).

### **III. Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils produits par des organismes vivants et sont isolées souvent par des méthodes physiques (pression et distillation) (Franz et Novak, 2010). Elles sont stockées dans des cellules spéciales (glandes, poils) et peuvent être contenues dans n'importe quelle partie d'une plante (Pengelly, 2004). Etant extraits par distillation, les composants des huiles essentielles doivent être volatils, de poids moléculaire inférieur à 300 Daltons et légèrement hydrophobes (Sell, 2010).

#### **III. 1. La chimie des huiles essentielles**

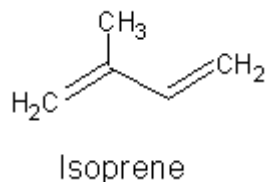
Les huiles essentielles sont généralement constituées d'un mélange d'hydrocarbures et des composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Dans quelques huiles, les hydrocarbures sont dominants, et les composés oxygénés ne sont présents qu'avec des taux limités, tandis que dans d'autres huiles, les composés oxygénés sont majoritaires. L'odeur et le goût des huiles essentielles sont principalement déterminés par ces composés oxygénés (Evans, 2008).

##### **III.1.1. Les différentes catégories des composés des huiles essentielles**

###### **a. Les terpènes**

Constitués à partir d'unités d'isoprènes (figure 1) liées entre elles d'une façon tête queue. Ils sont synthétisés par la voie d'acétate (d'acide mévalonique) (Pengelly, 2004 ; Bowles, 2003). Les plus répandus sont les monoterpènes,  $C_{10}H_{16}$ , et leurs dérivés oxygénés tel que les cétones, les aldéhydes, les alcools, les oxydes, ainsi que les hydrocarbures simples (Pengelly, 2004). (tableau 1).

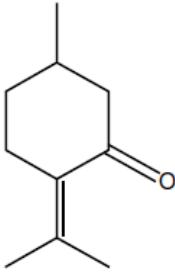
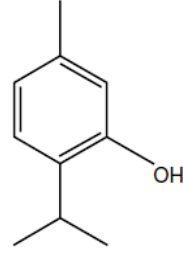
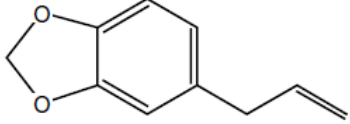
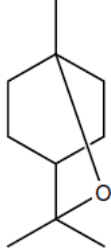
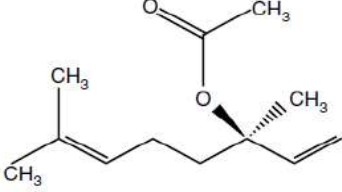
Les terpènes peuvent, aussi, être présents sous forme de diterpènes, triterpènes et tetraterpènes ( $C_{20}$ ,  $C_{30}$ , et  $C_{40}$ ), ainsi que sous forme d'hemiterpènes ( $C_5$ ) et sesquiterpènes ( $C_{15}$ ) ; quand les terpènes contiennent des groupements fonctionnels, généralement oxygénés, ils sont appelés "Terpénoïdes" (Cowan, 1999).



**Figure 1 :** Formule semi développée de la molécule isoprène

**Tableau 1 :** La classification des composés des huiles essentielles (Pengelly, 2004)

Composé	Description	Exemple
Hydrocarbures	Contiennent que des atomes de carbone et d'hydrogène	<p style="text-align: center;">Limonène</p>
Alcools	Contiennent un groupement hydroxyle attaché à la structure terpénique	<p style="text-align: center;">R-(+)-linalol</p>
Aldéhydes	Terpénoïdes avec un groupement carbonyle et un atome d'hydrogène lié au carbone	<p style="text-align: center;">Géranial</p>
Aldéhydes cycliques	Groupement aldéhyde attaché au cycle de benzène	<p style="text-align: center;">Benzaldéhyde</p>

Cétones	Contiennent un groupement carbonyle	 <p>Pulégone</p>
Phénols	Un groupement hydroxyle attaché au cycle de benzène	 <p>Thymol</p>
Ethers phénoliques	Contiennent un atome d'oxygène entre le carbone et le cycle de benzène	 <p>Safrole</p>
Oxydes	Contiennent un oxygène faisant un pont entre 2 carbones ou plus	 <p>1,8-cinéole</p>
Esters	Produits de condensation d'un acide et un alcool	 <p>Acétate de linalyle</p>

### b. Les composés aromatiques

Synthétisés via la voie d'acide shikimique dans les plantes qui fabriquent, aussi, les tanins (Evans, 2008). Ils incluent quelques aldéhydes, les phénols et les éthers phénoliques (Pengelly, 2004).



**c. Les composés minoritaires**

➤ **Les composés hétérocycliques**

Constitués par des atomes de carbone arrangés en un cycle, avec soit un atome d'azote ou d'oxygène inclus comme partie du cycle. Ces molécules sont rares dans les huiles essentielles ; sont principalement présents dans les huiles essentielles de fleurs comme le Jasmin et le Néroli (Bowles, 2003).

➤ **Les composés soufrés**

Ce sont des molécules linéaires contenant des atomes de soufre. Ils ne sont pas des dérivés de terpènes et ils possèdent des odeurs très âcres (Pengelly, 2004 ; Clarke, 2008).

### **III.2. Les propriétés des huiles essentielles**

Les huiles essentielles ont été largement utilisées pour leurs propriétés antibactérienne, antifongique et insecticide. Leurs utilisations pharmaceutique et alimentaire sont de plus en plus appréciées comme des alternatives des produits chimiques de synthèse, afin de protéger l'équilibre écologique (Bakkali *et al.*, 2008). Citons quelques exemples ci-dessous :

#### **III.2.1. L'activité antimicrobienne**

Hosseini Behbahani *et al.* (2013) ont révélé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux espèces de Thym (*Thymus daenensis* et *Thymus vulgaris*) contre trois bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*), une levure (*Candida albicans*) et un champignon (*Aspergillus niger*).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut et *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. contre *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* et *Staphylococcus aureus* a été mise en évidence par Amarti *et al.* (2010).

#### **III.2.2. L'activité antioxydante**

Kulisic *et al.* (2000) ont utilisé plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle de l'Origan (*Origanum vulgare*) qui a été comparable à celle de l' $\alpha$ -tocopherol et du BHT (butylated hydroxytoluene).

Safaei-Ghomi *et al.* (2009) ont révélé l'action antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus caramanicus* et ceci en employant deux test d'activité.

### III.2.3. Autres activités

Un nombre importants de résultats de recherches affirme les diverses propriétés des huiles essentielles.

Une activité anti-inflammatoire, avec une inhibition des enzymes clés intervenant dans la maladie d'Alzheimer (l'acétylcholinesterase et la butyrylcholinesterase), ont été attribuées aux huiles essentielles d'*Origanum ehrenbergii* Boiss et *Origanum syriacum* L. par **Loizzo et al. (2009)**.

Un autre exemple est l'activité antiparasitaire observé par **de Melo et al. (2013)**, contre la leishmaniose et ceci en employant les huiles essentielles de *Lippia gracilis*. Ainsi, l'activité anticancéreuse des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* a été mise en évidence par **Fayed (2015)**.

## IV. Les composés phénoliques

Ce sont des composés ayant un ou plusieurs groupements hydroxyle liés directement à un cycle aromatique. Le Phénol est la structure de base de ce groupe de composés, le cycle aromatique dans ce cas est le benzène. Les polyphénols sont des composés possédant plus d'un groupement hydroxyle attachés à un ou plusieurs cycles de benzène. Les composés phénoliques sont caractéristiques des plantes et comme groupe, ils sont d'habitude présents comme esters ou glycosides plutôt que des composés libres (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

### IV.1. La classification des composés phénoliques

Le terme de phénols couvre un groupe large et diversifié de composés chimiques, qui peuvent être classés selon plusieurs critères.

Les phénols varient entre des molécules simples à faible poids moléculaire et un seul cycle aromatique, et des composés larges et complexes comme les tannins et les polyphénols. Ils peuvent être classés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbone, et sont dans la plupart des cas conjugués aux sucres et aux acides organiques. (**Crozier et al., 2006**).

#### IV.1.1. Les phénols simples

Les phénols simples consistent en un cycle aromatique dans lequel un hydrogène est remplacé par un groupe hydroxyle. Leur distribution est répandue dans toutes les classes de plantes. Les propriétés générales des phénols simples sont bactéricides, antiseptiques et anthelminthiques. Les phénols les plus simples sont des structures en C<sub>6</sub> consistant en un cycle aromatique avec des groupes hydroxyles attachés. Ceux-ci incluent le pyrogallol et l'hydroquinone (Pengelly, 2004).

#### IV.1.2. Les flavonoïdes

Ce sont le groupe le plus répandu et largement distribué de polyphénols végétaux. Ils sont présents dans différents tissus de plantes comme les fleurs, les fruits, les racines, les tiges et les feuilles. Ils forment le plus grand groupe de métabolites secondaires impliqué dans diverses fonctions dans les plantes tel que la coloration des tissus, la défense contre les pathogènes, l'attraction des pollinisateurs...etc. Jusqu'à présent plus de 8000 flavonoïdes ont été identifiés. La structure de base de flavonoïdes est dérivée du corps C<sub>15</sub> dans le modèle C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub> constitué de deux cycles aromatiques (A et B) reliés par un pont à 3 carbones qui est habituellement un hétérocycle oxygéné (cycle C). Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes (Figure 2) selon leur variation en structure (Sarma, 2011).

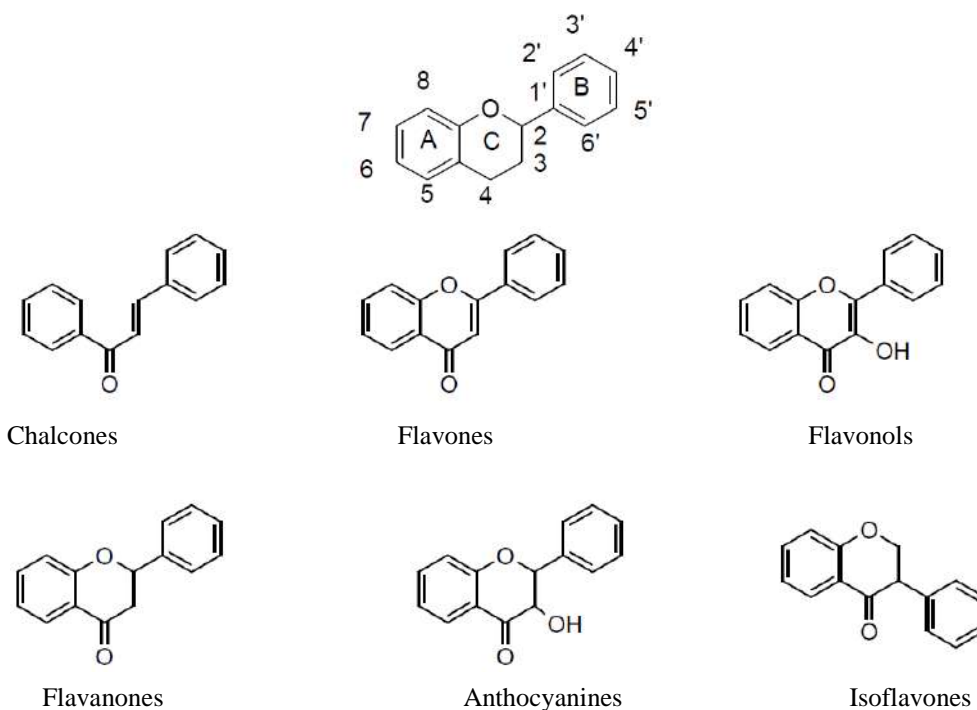


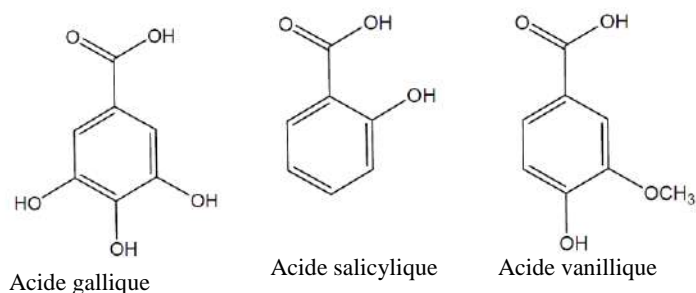
Figure 2 : Principales classes des flavonoïdes

### IV.1.3. Les acides phénoliques

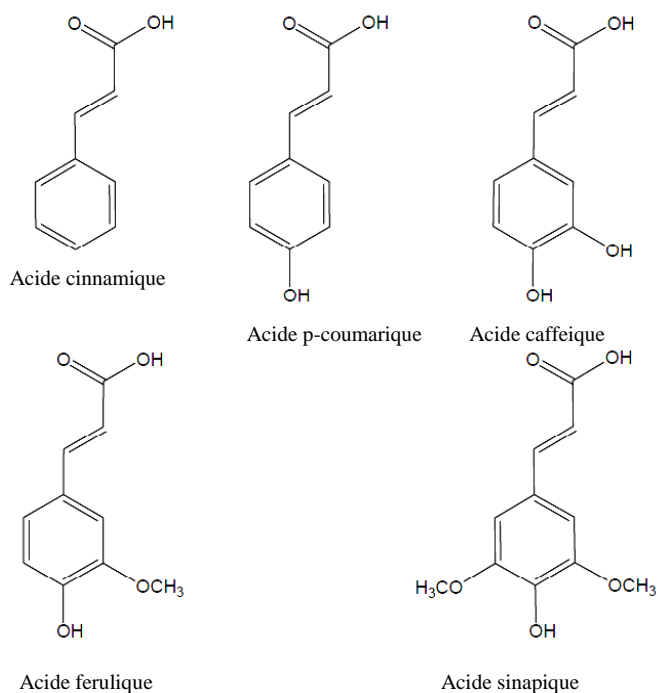
Cette classe est représentée par les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques.

**a. Acides hydroxybenzoïques** : ce sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Ils sont souvent présents sous formes d'esters ou de glycosides. (Macheix, 2005). Ces acides sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyl lié au phénol. On peut citer comme exemple : l'acide gallique, l'acide salicylique et l'acide vanillique (figure 3A) (Vermerris et Nicholson, 2006).

**b. Acides hydroxycinnamiques** : dérivés de l'acide cinnamique, ils ont une formule de base de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Toutes les plantes contiennent au moins trois parmi les acides connus, citant comme exemples : l'acide cinnamique, l'acide p-coumarique, l'acide caffeique, l'acide ferulique, et l'acide sinapique (figure 3B) (Vermerris et Nicholson, 2006).



A : Acides hydroxybenzoïques



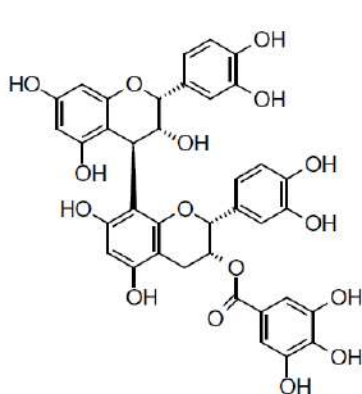
B : acides hydroxycinnamiques

**Figure 3** : Structures chimiques des acides phénoliques

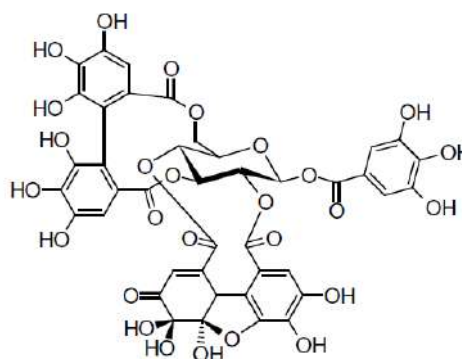
#### IV.1.4. Les formes condensées

Ces formes résultent de la condensation de certaines des formes simples, selon la nature de ces formes simples ainsi que le type de condensation, on obtient des formes plus ou moins complexes qui sont particulièrement difficiles à étudier car elles nécessitent une dégradation chimique ou enzymatique afin de pouvoir les analyser. Parmi les formes condensées on peut distinguer les tannins et les lignines (Macheix, 2005).

- a. **Les tannins** : Les tanins sont des composés de masse moléculaire élevée (500-5000) contenant suffisamment de groupes hydroxyle phénoliques pour permettre la formation de réticulations stables avec des protéines et, par conséquent, les précipiter. Presque tous les tanins sont classés comme des tanins hydrolysables ou des tanins condensés (Figure 4), certaines plantes contiennent les deux types (Pengelly, 2004 ; Macheix, 2005).
- b. **Les lignines** : ce sont des polymères phénoliques, ils jouent un rôle important en fournissant le soutien structurel aux plantes. C'est le deuxième polymère le plus abondant dans la nature, après la cellulose (Macheix, 2005).



Proanthocyanidine (Tannins condensés)



Geraniine (Tannins hydrolysables)

**Figure 4** : Exemples de structures chimiques des Tannins

## IV.2. Propriétés des composés phénoliques

Les composés phénoliques possèdent des activités biologiques importantes qui peuvent être liées directement à leurs structures chimiques.

La santé humaine est également intimement liée à cette classe de composés, car de nombreux composés médicinaux sont dérivés ou inspirés par les phénols des plantes. Les exemples incluent la podophyllotoxine de lignane de la pomme de mai (*Podophyllum peltatum*), qui va former le téniposide, l'étoposide et l'étophos, utilisés pour traiter un certain nombre de cancers. La curcumine diarylheptanoïde de *curcuma* (l'épice de curry), qui a de puissantes propriétés anti-inflammatoires et est utilisé dans le monde entier pour traiter l'arthrite et d'autres maladies inflammatoires (Kutchan *et al.*, 2015).

### IV.2.1. L'activité antimicrobienne

Un nombre important de recherches ont démontré les propriétés antimicrobiennes des extraits phénoliques, citant entre autres l'étude réalisée par Benbelaïd *et al.* (2013) qui s'ont intéressé par les effets antimicrobiens des composés phénoliques extraits à partir de l'espèce endémique *Thymus lanceolatus* Desf., ces derniers ont montré une inhibition de croissance contre les différentes souches testées (21 souches dont 19 bactéries et deux champignons).

### IV.2.2. L'activité antioxydante

Les composés phénoliques sont caractérisés par des propriétés antioxydantes importantes. Ils peuvent agir en tant qu'agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, chélateurs de métaux et piègeurs d'oxygène singulet (Sarma, 2011). Plusieurs études sont intéressées par l'activité antioxydante des composés phénoliques, à titre d'exemples on peut citer :

Delgado *et al.* (2014), ont étudié les extraits phénoliques de 20 populations de *Thymus mastichina* L. cette étude a montré une activité antioxydante importante de ces extraits.

Une autre étude menée par Roby *et al.* (2013) sur trois espèces des *Lamiaceae*, a confirmé l'effet antioxydant des extraits phénoliques.

### IV.2.3. Autres activités

Une étude menée par Berdowska *et al.* (2013) sur les effets cytotoxiques des extraits de quatre espèces des *Lamiaceae* (*Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*, *Majorana hortensis*, *Mentha piperita*) a révélée une activité importante des extraits vis-à-vis des lignées de cellules cancéreuses testées.

Hyun *et al.* (2014), ont exploré les effets antidiabétiques des extraits phénoliques de *Thymus quinquecostatus* Celak, et ceci en étudiant leur pouvoir d'inhiber les enzymes  $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase.

## **V. Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène**

Bien que le métabolisme aérobie soit efficace, la présence d'oxygène dans l'environnement cellulaire possède une menace oxydante constante pour les structures et les processus cellulaires. En effet, l'évolution des processus métaboliques dépendants de l'oxygène tels que la respiration aérobie, la photosynthèse et la photorespiration conduit inévitablement à la production d'espèces réactives d'oxygène dans les mitochondries, les chloroplastes et les peroxysomes. Un résultat inévitable du transport d'électrons liés à la membrane (chloroplaste, mitochondrie et membrane plasmique) est le déversement d'électrons sur l'oxygène moléculaire dans les cellules végétales, avec la génération résultante d'espèces réactives d'oxygène hautement toxiques (**Gupta, 2011**).

Un radical libre est défini comme toute espèce qui contient un ou plusieurs électrons non appariés. Les espèces réactives d'oxygène (ERO) sont des termes collectifs qui comprennent les radicaux oxygène tels que le superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), l'hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ), le peroxyde ( $RO_2^{\cdot}$ ) et des radicaux hydroperoxyde ( $HO_2^{\cdot}$ ), et certains agents oxydants non radicaux tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'acide hypochloreux ( $HOCl$ ) et l'ozone ( $O_3$ ), qui peuvent être facilement transformés en radicaux. Cependant, les espèces réactives d'oxygène sont également produites au cours du métabolisme normal (figure 5) et sont impliqués dans les réactions enzymatiques, le transport d'électrons mitochondrial, la transduction du signal, l'activation des facteurs de transcription nucléaires, l'expression des gènes et l'action antimicrobienne des neutrophiles et des macrophages (**Bayir, 2005**). Comme il existe aussi des sources exogènes de ces espèces, tel que l'exposition au rayonnement, le tabagisme, les polluants et les pesticides, les solvants organiques, les anesthésies. Certains de ces composés ainsi que quelques médicaments peuvent se transformer en produits intermédiaires de radicaux libres qui vont endommager les tissus cibles (**Machlin et Bendich, 1987**).

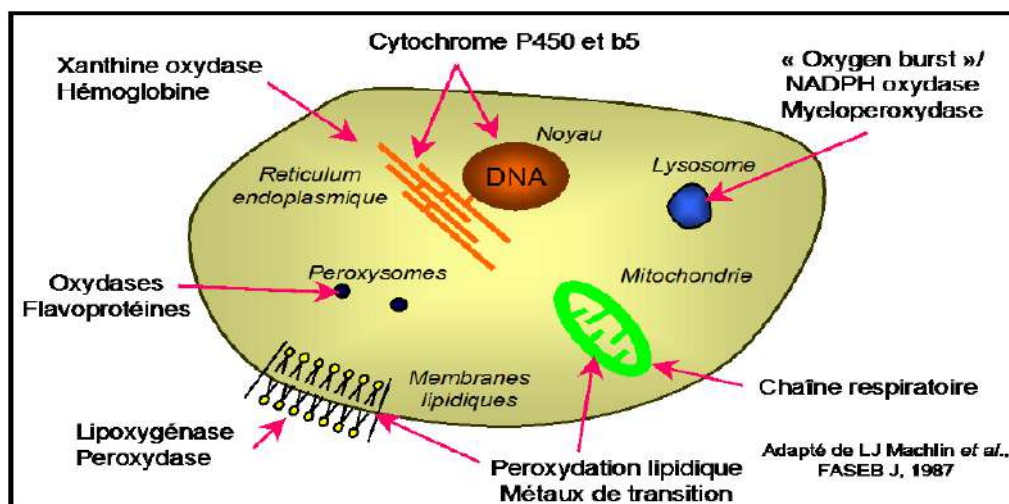


Figure 5 : Sources endogènes des espèces réactives d'oxygène

### V.1. Les conséquence de génération des radicaux libres et espèces réactives d'oxygène

Les ERO sont générés par les cellules inflammatoires, et ont des actions destructrices à la fois sur l'ADN et les protéines. Il n'est donc pas surprenant que les ERO font partie du mécanisme de défense contre les bactéries. L'action antimicrobienne doit être très spécifique puisque les ERO peuvent également détruire les tissus, ce qui se produit réellement dans de fortes conditions inflammatoires (Simon et al., 2000). La fluidité de la membrane cellulaire est largement déterminée par la présence de chaînes latérales d'acides gras polyinsaturés dans les phospholipides membranaires. Les acides gras polyinsaturés sont très sensibles aux attaques de radicaux libres, ce qui peut déclencher une peroxydation lipidique. Différents ERO, tels que le  $\text{OH}\cdot$ , peuvent initier une peroxydation lipidique, une fois les radicaux lipidiques produits, ils se combinent avec l'oxygène dissous dans les membranes et forment un radical peroxyde, qui peut attaquer les protéines de la membrane et les acides gras polyinsaturés adjacents, et propager par la suite la peroxydation lipidique de la membrane (Bayir, 2005).

Autres cibles pour les ERO sont les protéines ; un grand nombre de protéines sont affectées par les ERO, où suite à l'attaque ROS des changements conformationnels ont lieu qui vont affecter l'activité des protéines. La formation des liaisons disulfure suite à l'oxydation des résidus Cystéine peut conduire à des changements structuraux et d'activité associés. L'oxydation des résidus Cystéine dans les phosphatases est une cible importante dans les systèmes biologiques car elle affecte la phosphorylation des protéines et a donc un impact important dans le protéome cellulaire (Krumova et Cosa, 2016)



## VI. Le pouvoir antioxydant

Afin de limiter les effets nocifs des radicaux libres et des ERO, les cellules ont développées des mécanismes de défense contre les menaces oxydatives.

Les substances qui neutralisent les effets potentiellement néfastes des radicaux libres sont généralement regroupées dans ce qu'on appelle système de défense antioxydant. Comme le montre le tableau 2, un tel système englobe de nombreuses substances, qui sont souvent appelées antioxydants, piègeurs de radicaux libres, terminateurs de chaîne ou réducteurs. Les systèmes antioxydants responsables de la protection cellulaire contre le stress oxydatif sont aussi diversifiés que les radicaux libres eux-mêmes. Pour assurer une protection maximale, les cellules contiennent une variété de substances capables de balayer de nombreuses espèces différentes de radicaux libres, y compris les peroxydes lipidiques et les radicaux libres à base de carbone organique (tableau 4) (Byung, 1994).

**Tableau 2 : les composés antioxydants majeurs des cellules (Byung, 1994).**

Catégorie	Structure	Site	Actions
Systèmes enzymatiques			
Superoxyde dismutase (SOD)	Cu/Zn SOD	Le cytosol aussi le noyau	Dismutation de $O_2^{\cdot-}$ en $H_2O_2$
	MnSOD	La mitochondrie	
	CuSOD	Le plasma	
Catalase	Homoprotéine tetramérique	Peroxisomes	Dismutation de l' $H_2O_2$ et réduction de l'éthyl et le méthyl hydroperoxyde
Cycle redox de GSII			
GSH peroxydase	Selenoprotéine	Cytosol, aussi la mitochondrie	Réduction d' $H_2O_2$ et autres hydroperoxydes (peroxydes de lipides, produits de lipoxygénase)
GSH réductase	Protéine dimérique	Cytosol, aussi la mitochondrie	Réduction de disulfides à faible poids moléculaire
Composés liposolubles			
$\alpha$ -tocophérol (Vitamine E)	Vitamine liposoluble	Fluides extracellulaires	Conversion d' $O_2^{\cdot-}$ et $\cdot OH$ et les radicaux peroxydes des lipides en des formes moins réactives
$\beta$ -carotène	Précurseur de la vitamine A	Membranes	Piégeage d' $O_2^{\cdot-}$ , et réagit directement avec les radicaux peroxyde

Bilirubine	Produit du catabolisme d'hémoprotéine	Sang, tissus	Réagit avec ROO·
Composés hydrosolubles			
Acide ascorbique (Vitamine C)	Vitamine hydrosoluble	Large distribution dans les liquides intra et extracellulaires	Piégeage direct d'O <sub>2</sub> <sup>-·</sup> , et ·OH, neutralise les oxydants des neutrophiles stimulés
Acide urique	Base purine oxydée	Large distribution	Piégeage d'OH·O <sub>2</sub> <sup>-·</sup> prévient l'oxydation de la vitamine C, se lie aux métaux de transition
Glucose	Carbohydate	Large distribution	Piégeage d'·OH
Cystéine	Acide aminé	Large distribution	Réduction de plusieurs composés organiques
GSH (glutathion)	Tripeptide	Intracellulaire	Réaction direct avec O <sub>2</sub> <sup>-·</sup> , et ·OH et les radicaux libres organiques

Dans les systèmes vivants, les antioxydants alimentaires comme l'  $\alpha$ -tocophérol, l'acide ascorbique, les caroténoïdes, les flavonoïdes et autres composés phénoliques, peuvent être efficaces dans la protection contre les effets de l'oxydation. Un nombre important d'antioxydants synthétiques comme le BHA (hydroxyanisole butylé), ou le BHT (hydroxytoluène butylé), ont été développés mais leur utilisation a commencé d'être limitée à cause de leur toxicité. Pour cette raison, il y a un intérêt croissant dans le domaine de l'industrie agroalimentaire et la médecine préventive, pour l'élaboration d'antioxydants naturels à partir des végétaux (**Haraguchi, 2001**).

## **VII. L'activité antioxydante des plantes**

Les antioxydants ont un effet positif sur la santé générale chez l'Homme qui, en plus de ses antioxydants endogènes, absorbe une quantité considérable d'antioxydants avec le régime alimentaire. Les plantes sont sensibles aux dommages causés par l'oxygène actif et produisent une quantité importante de divers composés antioxydants. De tels composés peuvent empêcher le stress oxydatif provoqué par la production des ERO, agir comme des composés piègeurs des ERO et fournir une protection à large spectre contre les radicaux oxydants. La recherche sur la phytochimie des plantes ayant une activité antioxydante a confirmé que de nombreuses plantes aromatiques et médicinales contiennent des composés fortement antioxydants (**Dubey, 2015**).

### VIII. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des substances naturelles, ces méthodes reposent essentiellement sur deux principes :

- Le premier est associé avec la peroxydation lipidique, comme les tests de l'acide thiobarbiturique (TBA), du  $\beta$ -carotène et des diènes conjugués.
- Le deuxième repose sur le transfert d'électrons ou de protons pour la neutralisation des radicaux ou de certains métaux, c'est le cas des tests : DPPH, ABTS, FRAP...

En général, il est recommandé d'utiliser au moins trois méthodes pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. (Shibamoto, 2014).

Le tableau 3 regroupe les tests les plus utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits naturels.

**Tableau 3 :** Les tests les plus utilisés pour évaluer l'activité antioxydante

Test	Molécule impliquée	Mécanisme réactionnel	Référence
$\beta$ -carotène	$\beta$ -carotène, acide lonoléique	Oxydation du $\beta$ -carotène par les produits de dégradation de l'acide lonoléique	Laguerre <i>et al.</i> , (2007)
DPPH	DPPH $\cdot$	Transfert de protons	Molyneux, 2004
ABTS	ABTS $\cdot$	Transfert de protons	(Chen., 2004)
FRAP	Fe <sup>3+</sup> -TPTZ	Transfert d'électrons	Prior <i>et al.</i> , 2005

***Chapitre II :***  
***Matériel et méthodes***

## I. Matériel biologique

### I. 1. Les plantes étudiées

Dans ce travail, nous avons étudié deux espèces de plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Les informations détaillées de ce matériel sont rapportées dans le tableau 4 (noms des plantes, stations et mois de récolte).

**Tableau 4 :** Les plantes étudiées, leurs noms scientifiques et communs ainsi que des informations sur la récolte.

Nom botanique	Nom commun	Région	Mois de récolte	Symbole
<i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. & Durieu	Zaâtar R'mel	Tiaret	Mai 2012	S1
			Mai 2012	S2
			Mai 2013	S3
		Djelfa	Juin 2013	S4
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Zaâtar Djebel	Djelfa	Mai 2013	T1
		Tiaret	Juin 2013	T2

Les échantillons de plantes ont été récoltés durant la période de floraison entre les mois de mai et juin. L'identification de ces plantes a été faite par Messieurs Ouinten Mohamed (Université Amar Thelidji-Laghouat) et Guite Ibrahim (Université Ziane Achour-Djelfa). Les plantes ont été ensuite placées dans un endroit frais à l'abri de la lumière afin de les sécher. Les quantités destinées à l'extraction des composés phénoliques ont été moulues en poudre fine.

#### I. 1. 1. Les caractéristiques botaniques des plantes étudiées

- *Saccocalyx satureioides* Coss. & Durieu

C'est un sous arbrisseau, de 20 à 100 cm, à tiges érigées. Les feuilles sont petites, oblongues ou étroites, ciliées à la base. Les fleurs sont en verticilles, par quatre à six à l'aisselle des feuilles, petites, blanches rosées ou pourpres. Le calice est à 5 dents, fortement accrescent et vésiculeux à la maturité. La corolle, est à 4 lobes très courts, sub-égaux, les supérieurs plus ou moins émarginés. Plante à odeur de thym. La plante est répartie, en Algérie, dans les dunes de la zone pré-désertique, endémique algérien. (Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1977).

- ***Thymus vulgaris* L.**

Plante vivace d'un vert grisâtre (surtout l'été), à tiges ligneuses et à rameaux dressés, compacts ; feuilles très petites, ovales lancéolées, charnues, veloutées, à bords enroulés, plus ou moins sessiles et opposées ; fleurs roses ou blanchâtres, en épis courts, axillaires et terminaux ; calice bossu, velu ; tétrakènes brunâtres ; saveur aromatique légèrement piquante (**Baba Aissa, 1999**).

L'utilisation du Thym est l'un des remèdes populaires les plus utiles, dans les traitements des affections respiratoires (rhumes, gripes, angines) et des troubles gastriques (dyspepsies, crampes, flatuosités). Son essence a une action neutralisante spectaculaire sur les cultures microbiennes (**Baba Aissa, 1999**).

## II. Les méthodes expérimentales

### II. 1. L'extraction

#### II. 1. 1. L'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles des différents échantillons de plantes a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif du type Clevenger. Après la condensation, les traces d'eau ont été éliminées, de l'extrait, par l'ajout d'une quantité de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), par la suite les huiles essentielles ont été conservées à  $+4^\circ\text{C}$  et à l'abri de la lumière. Le rendement de chaque échantillon est calculé par rapport à la masse initiale de la matière sèche :

$$R(\%) = \frac{m_{HE}}{m_{mv}} \times 100$$

Où :

$m_{HE}$ : masse de l'huile essentielle extraite, (en gr)

$m_{mv}$ : masse initiale de la matière végétale, (en gr)

$R(\%)$  : rendement en Huile essentielle

#### II. 1. 2. L'extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques a été procédée comme suit :

Trois systèmes de solvants ont été employés : Méthanol/Eau (8 : 2), Acétone/Eau (7 : 3) et Méthanol/Acétone/Eau (4 : 4 : 2) dans lesquels une macération de 5g de la matière végétale dans 100ml de solvant a été effectuée pendant 48h avec renouvellement de solvant. La macération a été suivie par une filtration puis une évaporation des solvants organiques. La phase

aqueuse a subi une extraction liquide – liquide. Dans une première étape une dépigmentation / délipidation a été effectuée en utilisant l'hexane jusqu'à épuisement des pigments, les composés phénoliques ont été extraits par l'acétate d'éthyle. L'acétate d'éthyle a été évaporé et les fractions obtenues ont été conservées dans des flacons bien scellés jusqu'à utilisation (rendements, dosage des phénols et des flavonoïdes, analyse HPLC et l'évaluation de l'activité antioxydante). Le rendement de chaque échantillon est calculé par rapport à la masse initiale de la matière sèche :

$$R(\%) = \frac{m_{RS}}{m_{mv}} \times 100$$

Où :

$m_{RS}$ : masse du résidu sec, (en gr)

$m_{mv}$ : masse initiale de la matière végétale, (en gr)

$R(\%)$  : rendement en extrait brut

## **II. 2. La quantification des composés phénoliques**

### **II. 2. 1. Le dosage des phénols totaux**

Le protocole utilisé par notre laboratoire est inspiré de celui de **Vermerris et Nicholson (2006)**, avec quelques modifications.

#### **Mode opératoire**

La méthode est basée sur le dosage de la concentration totale des groupements hydroxyles dans un extrait par le réactif de Folin-Ciocalteu (FC). Les composés phénoliques ont la capacité de réduire le complexe jaune de molybdotungstane (du réactif FC) et donner une coloration bleue au produit de la réaction.

Des solutions méthanoliques de différentes concentrations d'extrait (ou d'étalon) ont été préparées. 100  $\mu$ L de chaque solution diluée ont été mélangés avec 500  $\mu$ L du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois). Après deux minutes, on ajoute 2 mL d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 2% (m/v), le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 minutes.

L'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc par un spectrophotomètre UV Visible de type Shimadzu 1601.

#### **Expression des résultats**

Les valeurs des concentrations ont été calculées à l'aide de la droite d'étalonnage de la solution méthanolique de référence d'acide gallique, de la forme  $A = a \times C$  où "a" : représente la

pende et C la concentration. La concentration de chaque extrait est exprimée en mg d'équivalent de l'acide gallique par gramme de matière sèche.

## **II. 2. 2. Le dosage des flavonoïdes**

Pour ce dosage, nous avons utilisé le protocole de Lamaison et Carnat (**Djeridane et al., 2006**), utilisant le réactif de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ).

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe stable de coloration jaune avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes qui absorbe à une longueur d'onde maximale de 409 nm.

### **Mode opératoire**

Pour chaque extrait, des solutions diluées ont été préparées dans le méthanol, 1 ml de chaque dilution est mélangé avec 1 ml de trichlorure d'aluminium à 2% suivi d'une incubation à l'obscurité pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible de type Shimadzu 1601.

### **Expression des résultats**

Les valeurs des concentrations ont été calculées à l'aide de la droite d'étalonnage de la solution de référence de la rutine, de la forme  $A = a \times C$  où "a" : représente la pente et C la concentration. La concentration de chaque extrait est exprimée en mg d'équivalent de rutine par gramme de matière sèche.

## **3. La composition chimique des extarits**

### **II.3.1. La composition chimique des huiles essentielles**

Les huiles essentielles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse à ionisation de flamme, et couplée à la spectrométrie de masse.

#### **3.1.1. La chromatographie phase gazeuse**

L'analyse a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse (GC) (Agilent technologies 7890A Gas) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) a été utilisée pour les séparations de composés avec une colonne capillaire HP5 (30 m  $\times$  0,32 mm, épaisseur de film 0,40  $\mu$ m). Le programme de température du four était le suivant : 2 minutes à 80° C, de 80° C à 200° C à raison de 5° C / min, puis 5 minutes à 200° C, puis de 200° C à 260° C à raison de 20° C / min, puis 5 minutes à 260° C. Les températures du détecteur et de l'entrée étaient de 280° C.



L'hydrogène a été utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 1 ml/min avec un rapport de division 70/1. Les injections sont de 1 µl d'huile essentielle dans le chlorure de méthylène (50 mg d'huile essentielle dans 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Les indices de rétentions des constituants sont calculés par rapport à une série d'alcane (C<sub>8</sub> à C<sub>26</sub>) analysée dans les mêmes conditions opératoires que celles des échantillons.

### **II.3.1. 2. La chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse**

Les échantillons ont été analysés par GC/MS, en utilisant un Shimadzu GC/MS-QP2010 ultra. La colonne capillaire DB-5 fusionnée. La température du four a été programmée à 50 ° C pendant 3 min, puis 2 ° C / min à 250 ° C, puis laissée à 250 ° C pendant 10 min. La température du port d'injection était de 250 ° C et celle du détecteur était de 280 ° C (rapport de division: 1/100). Le gaz vecteur était de l'hélium (99,995% de pureté) avec un débit de 1,2 ml/min. Les conditions du spectromètre de masse étaient les suivantes: tension d'ionisation : 70 eV ; Température de source d'ions : 150 ° C; Les spectres de masse par ionisation électronique ont été acquis sur la plage de masse de 50-550 m / z.

### **II.3. 1.3. L'identification des composés**

L'identification des constituants des huiles essentielles est réalisée à l'aide des indices de rétention calculés sur la base d'une série des *n*-alcanes, et des spectres de masse obtenus à l'aide d'une banque de données de l'appareil (NIST 2014, Wiley 2007).

### **II.3.2. La composition chimique des extraits phénoliques**

Les composés phénoliques ont été identifiés par UHPLC-DAD-ESI / MS<sup>n</sup>. Le travail a été effectué par un appareil Ultimate 3000 (Dionex Co., USA) avec un détecteur à barrettes de diodes 3000 (Dionex Co., USA) et couplé à un spectromètre de masse à piège à ions Thermo LTQ XL (Thermo Scientific, USA) équipé d'une source ESI. L'analyse a été effectuée sur une colonne C18 Hypersil Gold (Thermo Scientific, USA) (longueur de 100mm, diamètre intérieur de 2,1mm, diamètre de particule de 1,9µm, extrémité bouchée) et sa température a été maintenue à 30°C. La phase mobile pour la séparation des constituants des extraits était composée par deux solvants : (A) H<sub>2</sub>O acédifiée à 0,1% d'acide formique (v/v) et (B) acétonitrile (100%). Le gradient de solvant a commencé avec 5-40% de solvant (B) sur 14 min et de 40 à 100% sur 2 min suivi du retour aux conditions initiales à partir de 18,8min. Le débit était de 0,2 mL/min et les données spectrales UV-Vis pour tous les pics étaient accumulées dans la gamme 200-500 nm

tandis que les profils chromatographiques étaient enregistrés à 280 nm. Le contrôle et l'acquisition des données de MS ont été effectués avec le système de données Thermo Xcalibur Qual Browser (Thermo Scientific, USA). De l'azote au-dessus de 99% de pureté a été utilisé et la pression du gaz était de 520 kPa (75 psi). L'instrument a fonctionné en mode ions négatifs avec une tension d'aiguille ESI réglée à 5,00 kV et une température capillaire ESI de 275 °C. Le balayage complet couvrait la gamme de masse de  $m/z$  100 à 2000. Des expériences CID-MS/MS et  $MS^n$  ont été acquises simultanément pour des ions précurseurs en utilisant de l'hélium comme gaz de collision avec une énergie de collision de 25-35 unités arbitraires.

## II. 4. L'évaluation de l'activité antioxydante

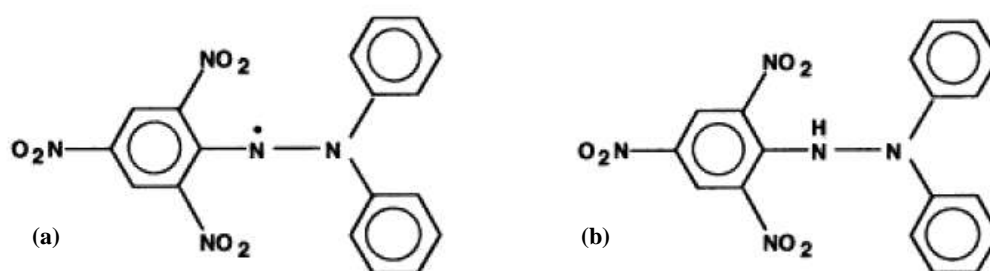
Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits, six tests ont été réalisés. Trois pour les huiles essentielles, et cinq pour les composés phénoliques.

### II. 4.1. L'activité antioxydante des huiles essentielles

#### II. 4. 1. 1. Le test du DPPH

##### Principe du test

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable (figure 6-a), dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène il y'a obtention de la forme réduite (figure 6-b) ; ce qui provoque la perte de la coloration violette (Molyneux, 2004).



**Figure 6** : Les structures chimiques du radical libre di-phényl-picrylhydrazyl (DPPH).

### **Mode opératoire**

Afin de tester leur pouvoir antioxydant, des dilutions des huiles essentielles ont été préparées dans de l'éthanol absolu. Un millilitre d'une solution éthanolique du DPPH (200µM) est ajouté à 1 ml de chaque dilution. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, les absorbances des échantillons ont été lues à 517nm par un spectrophotomètre UV Visible de type Shimadzu 1601 contre un blanc. Chaque absorbance correspond à un pourcentage d'inhibition calculé par la relation suivante :

$$I(\%) = \left( \frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100$$

Où :  $A_0$  est l'absorbance de la solution de DPPH sans huile essentielle.

A est l'absorbance de la solution de DPPH en présence de l'huile essentielle.

## **II. 4. 1. 2. Le test de $\beta$ -carotène**

### **Principe du test**

Le  $\beta$ -carotène subit une décoloration rapide en l'absence d'antioxydant. Ceci est dû à l'oxydation couplée du  $\beta$ -carotène et de l'acide linoléique, qui génère des radicaux libres. Le radical libre d'acide linoléique formé par l'abstraction d'un atome d'hydrogène d'un de ses groupes méthylène diallytique attaque les molécules de  $\beta$ -carotène hautement insaturées. En conséquence, le  $\beta$ -carotène est oxydé et décomposé ; par la suite, le système perd son chromophore et sa couleur orange caractéristique, qui est surveillée par spectrophotométrie à  $\lambda = 470\text{nm}$  (Sarikurkcu *et al.*, 2008). En présence d'un agent antioxydant, les radicaux vont être neutralisés, et le  $\beta$ -carotène va conserver la couleur orange.

### **Mode opératoire**

Le protocole expérimental a été basé des travaux de Marco (1968), Miller (1971) et Silvia Taga *et al.* (1984) avec modifications. Une solution de  $\beta$ -carotène a été préparée dans le chloroforme avec une concentration de 0,5mg/ml, puis 1 ml de cette solution est mélangé avec 20 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 20. Le chloroforme est ensuite évaporé sous vide à 45°C pendant 3 minutes, puis 75ml d'eau distillée a été ajouté à l'émulsion pour former le réactif final. Pour chaque expérience une solution fraîche du réactif a été préparée. 2ml de ce réactif est mélangé ensuite avec 200µl de dilution des huiles essentielles préparées dans l'éthanol, une incubation dans un bain marie à 50°C a été faite par la suite et ceci pour 2 heures. L'absorbance

de chaque dilution a été faite à 470nm. Un control a été préparé dans les mêmes conditions en remplaçant les extraits par le solvant. Les résultats ont été exprimés en pourcentages d'inhibitions calculés comme suit :

$$I(\%) = \left( \frac{A_{E(120)} - A_{C(120)}}{A_{C(0)} - A_{C(120)}} \right) \times 100$$

Où :  $A_{E(120)}$  est l'absorbance de la solution en présence de l'huile essentielle à  $t = 120\text{min}$

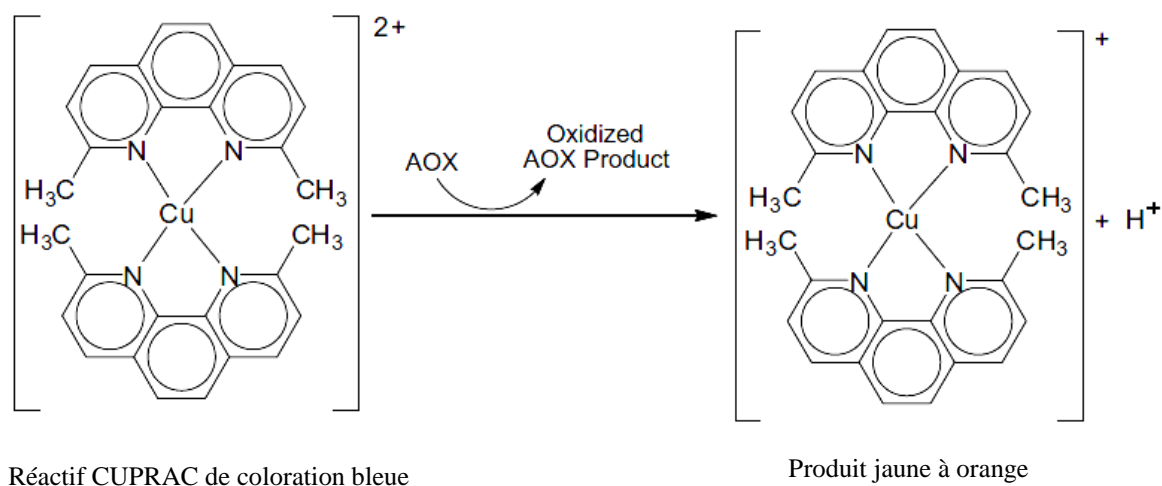
$A_{c(120)}$  est l'absorbance du control à  $t = 120\text{min}$

$A_{c(0)}$  est l'absorbance du control à  $t = 0\text{ min}$

### II. 4. 1. 3. Le test de réduction de cuivre (CUPRAC)

#### Principe du test

La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivie du changement de l'absorbance du complexe néocuproïne (Nc)-ions cuivrique  $[\text{Nc}_2\text{-Cu}^{2+}]$  qui subit une réduction en présence d'un agent antioxydant (figure 7). (Apak R. *et al*, 2004).



**Figure 7 :** La réaction CUPRAC et le complexe Cu-néocuproïne

### **Mode opératoire**

Une quantité de 100 µl de chaque dilution des huiles essentielles dans l'éthanol a été mélangée avec 1 ml du tampon d'acétate d'ammonium (1M, pH = 7), 500µl d'une solution de néocuproïne (7,5mM) et 500µl d'une solution de CuCl<sub>2</sub> (0,01M). Le mélange, qui présente une couleur bleue, est ensuite incubé à l'obscurité pendant 30 min. en présence d'un agent réducteur, la solution change de coloration pour donner une couleur orange. Les absorbances ont été mesurées contre un blanc à une longueur d'onde  $\lambda = 456\text{nm}$ . Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide ascorbique. (**Apak R. et al, 2004**).

## **II. 4. 2. L'activité antioxydante des extraits phénoliques**

### **II. 4. 2. 1. Le test du DPPH**

Le test a été effectué avec le même protocole que celui employé pour les huiles essentielles, sauf que pour les extraits phénoliques les dilutions ainsi que la solution du DPPH ont été préparées dans du Méthanol. Le calcul et l'expression des résultats a été fait de la même façon que les huiles essentielles.

### **II. 4. 2. 2. Le test d'ABTS**

#### **Principe du test**

Le test est basé sur la capacité des extraits à stabiliser le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de coloration vert-bleu en sa forme incolore. Le radical [2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)] ou ABTS<sup>•+</sup> est généré en présence de la peroxydase, la réaction est initiée par l'ajout d'une solution de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La disparition de la coloration vert-bleu peut être suivie par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 415 nm (**Chen, 2004**).

#### **Mode opératoire**

Pour générer le radical ABTS<sup>•+</sup> trois solutions différentes ont été préparée :

Une solution aqueuse d'ABTS (20mM), une solution aqueuse de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10mM) et une solution de la peroxydase (préparée dans un tampon phosphate pH=7) de concentration massique (0,2 mg/mL).

Les trois solutions ont été mélangées avec un rapport (10 : 1 : 1) et ceci donne une coloration vert-bleue indiquant la formation du radical ABTS<sup>•+</sup>. 100 µL de chaque dilution de l'extrait est mélangé avec 1 mL de la solution d'ABTS<sup>•+</sup>, le mélange est incubé à l'obscurité

pendant 5 min. L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre UV Visible de type Shimadzu 601 à 415 nm contre un blanc.

Les résultats ont été exprimés par pourcentage d'inhibition (I%) et ceci par la même relation que celle utilisée dans le test DPPH.

#### **II. 4. 2. 3. Le test du Molybdate-Phosphate**

##### **Principe du test**

Cette analyse est basée sur la réduction de Molybdate(VI) en Molybdate(V) par les composés antioxydants et la formation d'un complexe phosphate/Molybdate(V) à pH acide de couleur verte et avec une absorbance maximale à 695 nm (**Prieto et al., 1999**).

##### **Mode opératoire**

Les différents extraits phénoliques ont été dilués dans méthanol. Une quantité de 200 µl de chaque dilution est mélangée avec 2 ml d'un réactif (0,6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate sodique et 4 mM molybdate d'ammonium). Le mélange est ensuite incubé dans un bain marie réglé à 95°C pendant 90 min (**Prieto et al., 1999**). Les absorbance ont été déterminées à 695 nm. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide ascorbique.

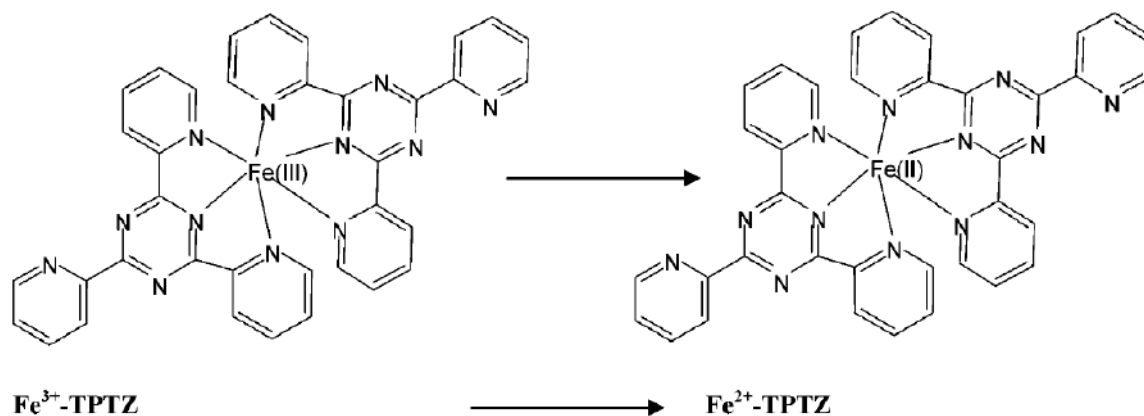
#### **II. 4. 2. 4. Le test de réduction de cuivre (CUPRAC)**

Le test a été effectué avec le même protocole que celui employé pour les huiles essentielles, sauf que pour les extraits phénoliques les dilutions ont été préparées dans du Méthanol. Le calcul et l'expression des résultats a été fait de la même façon.

#### **II. 4. 2. 5. Le test de FRAP**

##### **Principe du test**

Ce test est basé sur la réduction du complexe  $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ (tripyridyltriazine) en sa forme ferreuse ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) par un agent réducteur à un pH acide (figure 8). Ceci engendre l'apparition d'une couleur bleue avec une absorbance maximale à  $\lambda = 593\text{nm}$ . (**Benzie et Strain, 1996**)



**Figure 8 :** La réaction FRAP et le complexe Fe<sup>3+</sup>-TPTZ

### Mode opératoire

Le milieu réactionnel est constitué de 100µl de la dilution des extraits dans le méthanol et 1 ml du réactif FRAP. Ce dernier est préparé comme suit : 10ml d'une solution tampon d'acétate de sodium (pH = 3,6) et mélangé avec 1 ml d'une solution de TPTZ (10mM préparée dans une solution HCl 40mM) et 1 ml d'une solution FeCl<sub>3</sub> (20mM). Le mélange réactionnel est ensuite incubé pendant 7min, et les absorbances ont été déterminées contre un blanc à une longueur d'onde  $\lambda = 593\text{nm}$ .

### II. 5. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés par la moyenne et son écart type, toutes les expériences ont été reproduites trois fois. L'analyse des résultats a été effectuée à l'aide de Microsoft Office Excel et Curve Expert Professional.

# *Chapitre III : Résultats et discussion*



## I. Les teneurs des extraits

### I. 1. Les teneurs en huiles essentielles

Les teneurs en huiles essentielles des plantes étudiées sont consignées dans le tableau 5.

Les durées des extractions des huiles essentielles s'échelonnent entre 4 heures pour *Saccocalyx satureioides* (S1, S2) et 5 heures et demi pour *Thymus vulgaris* (T2) et *Saccocalyx satureioides* (S4).

Les teneurs en huiles essentielles varient entre 1,01 % (m/m) pour l'espèce de *Saccocalyx satureioides* (S2) et 3,97% (m/m) pour *Thymus vulgaris* (T2).

Pour *Saccocalyx satureioides*, nous avons obtenu des teneurs entre 1,01 (S2) et 3,61% (S4) ces valeurs sont comparables à ceux déterminées par Biondi *et al.* (2006) à partir d'un échantillon collecté dans la région de Bou-Saada (3,5%) ; Muselli *et al.* (2008) ont obtenu une teneur égal à 2,3% pour *Saccocalyx satureioides* collecté à Ain-Sefra, tandis que Zerroug *et al.* (2011) ont eu une teneur de 1,5% pour un échantillon collecté à Djelfa qui est inférieur de ce qu'on a obtenu à partir d'un échantillon de la même région (S4).

**Tableau 5 :** Teneurs en huiles essentielles des plantes étudiées.

Espèce	Echantillon	Durée d'extraction	Teneur (ml/100g)	Teneur (%) (m/m)
<i>Saccocalyx satureioides</i> Coss. & Durieu	S1	4h	2,4 ml	2,22
	S2	4h	1,1 ml	1,01
	S3	4h 30min	2,6 ml	2,44
	S4	5h 30min	4 ml	3,61
<i>Thymus vulgaris</i> L.	T1	3h	2 ml	1,76
	T2	5h 30min	4,4 ml	3,97

Sur les deux échantillons de *Thymus vulgaris* nous avons obtenu des teneurs de 1,76% et 3,97% pour T1 et T2 respectivement. Al-Bayati (2008) a obtenu une teneur de 1,67% pour un échantillon de *Thymus vulgaris* d'Iraq, tandis que celui de Hussain *et al.* (2011) était égal à 2,9 (g/kg) à partir d'un échantillon de Pakistan. Behnia *et al.* (2008) ont eu une teneur de 4,33% pour un échantillon d'Iran, alors qu'Imelouane *et al.* (2009) ont obtenu 1% pour *Thymus vulgaris* du Maroc. Ghasemi Pirbalouti *et al.* (2013) ont obtenu des teneurs allant de 0,75 à 0,82% pour des échantillons d'Iran.

Les différences observées pour les teneurs au niveau des mêmes espèces, peuvent être liée aux différences du climat, la nature du sol, la situation géographique, la saison des cueillettes ainsi que les méthodes d'extraction utilisées.

## I. 2. Les teneurs des extraits bruts

Le tableau 6 renferme les teneurs des résidus des extraits des différents échantillons de plantes étudiés. En général, nous avons obtenu des teneurs qui varient entre 3,58% et 8,55% avec les teneurs les plus faibles pour l'échantillon T2 de *Thymus vulgaris*. L'échantillon de *Saccocalyx satureioides* de la région de Djelfa (S4) a montré les teneurs les plus élevées par rapport aux autres échantillons de la même espèce. Pour cette dernière on peut noter que les extraits issus du système MeOH/Ace/H<sub>2</sub>O ont donné des teneurs plus élevées que ceux issus des autres systèmes. Il en est de même pour l'échantillon T1 de *Thymus vulgaris* alors que pour les échantillons T2 et S3, c'était le système Ace/H<sub>2</sub>O qui a donné les teneurs les plus élevées.

Si nous comparons nos résultats avec ceux de **Khled khoudja et al.(2014)** qui ont déterminé des teneurs plus élevées de 13,12 – 28,75 et 16,88% pour les trois espèces de *Lamiaceae* (*Calamintha clinopodium*, *Teucrium flavum* et *Thymus algeriensis* respectivement), nous remarquons que les plantes étudiées contiennent des quantités faibles en composés polaires.

**Tableau 6** : Teneurs des extraits bruts (m/m %)

		MeOH/H <sub>2</sub> O	Ace/H <sub>2</sub> O	MeOH/Ace/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx satureioides</i>	S1	5,65	6,12	6,27
	S2	5,92	5,81	7,26
	S3	5,91	7,64	6,89
	S4	7,25	7,454	8,55
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	5,97	5,93	6,03
	T2	3,58	4,76	3,76

## II. La quantification des composés phénoliques

### II. 1. Le dosage des phénols totaux

Le tableau 7 renferme les teneurs en phénols totaux des différents échantillons de plantes. Ces teneurs ont été calculées à l'aide de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure 9) et exprimées en milligrammes équivalent en acide gallique par gramme de matière sèche.

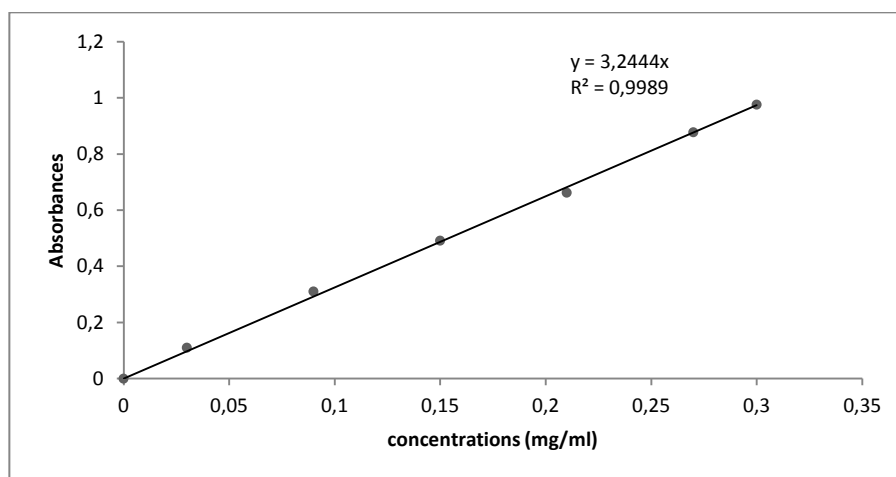


Figure 9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les teneurs en phénols totaux varient entre 11,03 et 21,29 mg EAG/g pour l'espèce de *Saccocalyx satureioides*. Les valeurs les plus élevées ont été observées pour le système MeOH/Ace/H<sub>2</sub>O pour les échantillons S1, S2 et S4 alors que pour l'échantillon S3 c'était le système Ace/H<sub>2</sub>O qui a donné la teneur la plus élevée. **Ziani et al., (2015)** ont déterminé une teneur en phénols totaux de 244 mg EAG/g pour un extrait de *Saccocalyx satureioides* préparé par infusion.

Tableau 7 : teneurs en phénols totaux mg EAG/g MS

		MeOH/H <sub>2</sub> O	Ace/H <sub>2</sub> O	MeOH/Ace/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx satureioides</i>	S1	11,67±0,77	17,26±2,06	18,27±2,14
	S2	11,03±1,09	17,72±2,06	21,29±1,07
	S3	14,38±1,83	19,84±3,26	15,39±2,24
	S4	15,34±2,32	16,01±2,49	18,79±2,46
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	19,90±2,32	23,27±3,93	24,47±4,34
	T2	13,70±2,43	19,36±2,52	14,95±2,49

Concernant l'espèce *Thymus vulgaris* les teneurs ont été entre 13,7 et 24,47 mg EAG/g, cette dernière valeurs correspond à la teneur la plus élevée que nous avons obtenu et ceci pour l'échantillon T1 avec le système MeOH/Ace/H<sub>2</sub>O. Pour l'échantillon T2, la teneur maximale était égale à 19,36 mg EAG/g pour le système Ace/H<sub>2</sub>O. **Proestos et al.(2005)** ont obtenu pour cette même espèce un taux de phénols totaux égale à 19,2 mg EAG/g et ceci pour un échantillon provenant de la Grèce. Alors que **Zheng et wang (2001)** ont déterminé un taux égale à 2,13 mg EAG/g de matière végétale fraîche pour un échantillon des Etats Unis. **Proestos et al.(2013)** ont obtenu un taux de 8,00 mg EAG/g à partir d'un échantillon de la Grèce. **Jabri-Karoui et al.**

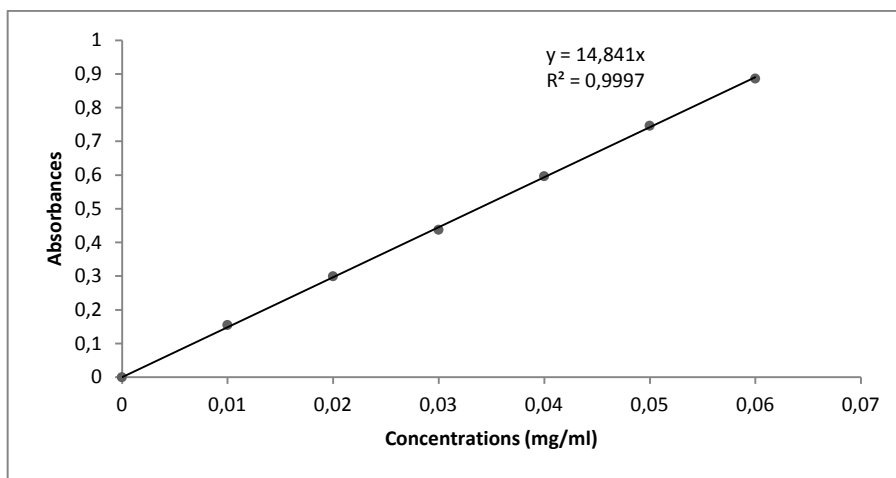
(2012) ont identifié pour un échantillon de *Thymus capitatus* (Tunisie) un taux de phénols totaux égale à 15,06 mg EAG/g.

Stagos *et al.* (2012) ont déterminé des teneurs en phénols totaux allant de 90 à 575 mg EAG/g de matière sèche pour les extraits aqueux et méthanoliques de 12 espèces de *Lamiaceae*.

Les différences observées au niveau des teneurs entre les différents échantillons d'une même espèce ainsi qu'entre les différents extraits d'un même échantillon peuvent être expliquées par la différence dans la composition en composés phénoliques de chaque échantillon, ainsi qu'à la nature des solvants utilisés lors de l'extraction et la méthode d'extraction, la saison de récolte, et les conditions climatiques de la région.

## II. 2. Le dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des différents échantillons sont regroupées dans le tableau 8. Ces teneurs ont été calculées par rapport à la courbe d'étalonnage de la rutine (figure 10) et exprimées en milligrammes équivalent en rutine par gramme de matière sèche.

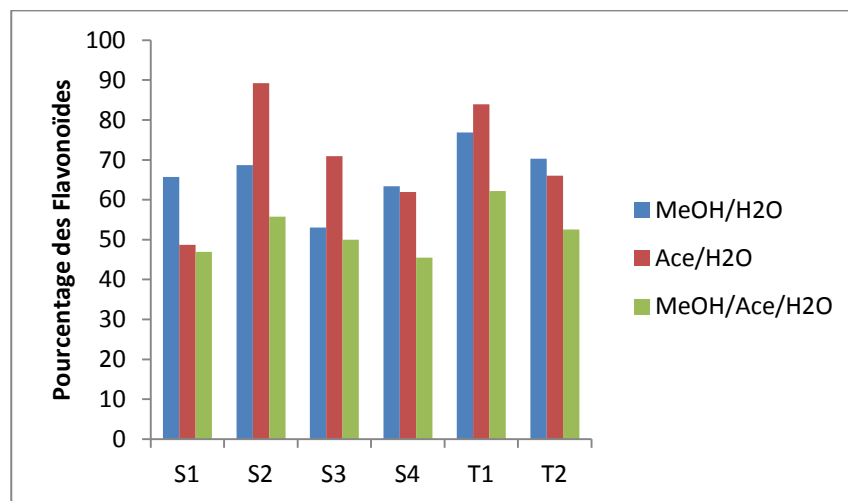


**Figure 10** : Courbe d'étalonnage de la rutine

**Tableau 8** : teneurs en flavonoïdes mg R/g MS

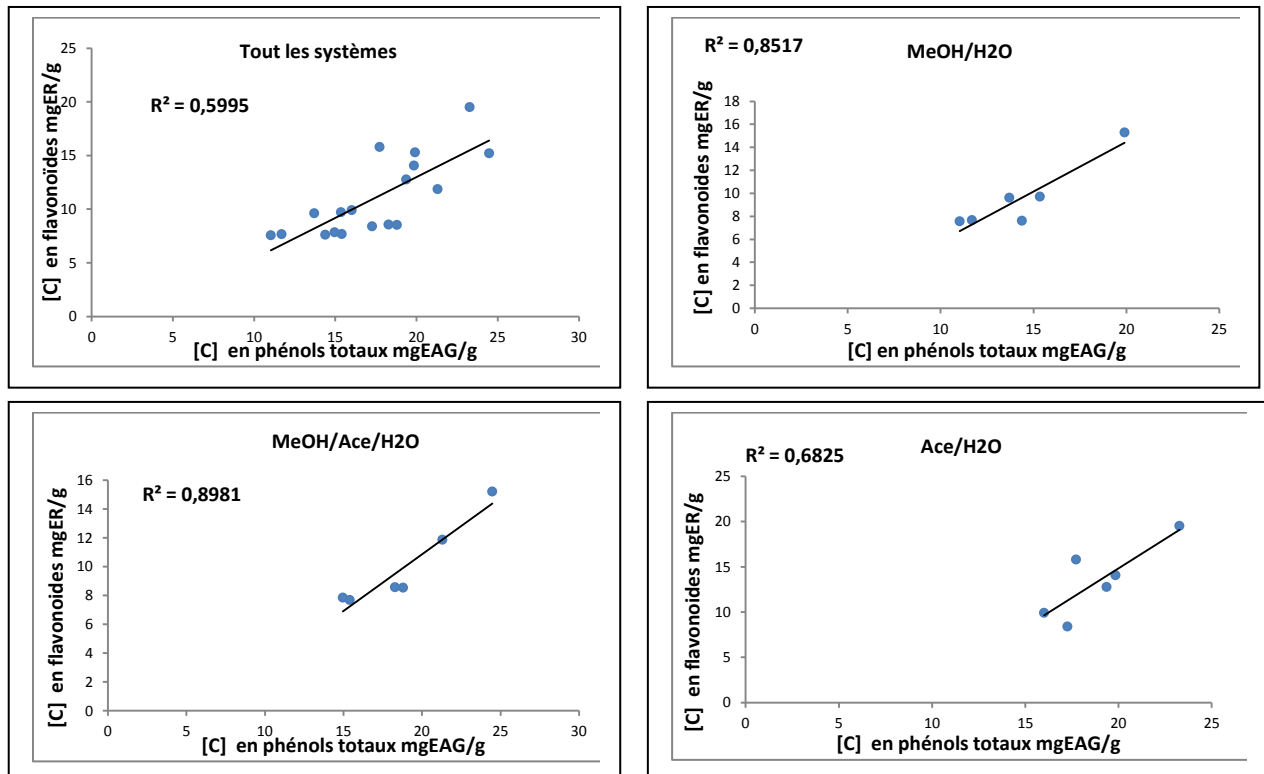
		MeOH/H <sub>2</sub> O	Acé/H <sub>2</sub> O	MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx satureioides</i>	S1	7,68±0,84	8,41±1,22	8,57±0,41
	S2	7,58±0,42	15,81±1,50	11,87±1,02
	S3	7,63±0,34	14,07±0,49	7,69±0,35
	S4	9,72±0,28	9,92±0,39	8,54±0,32
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	15,30±0,49	19,52±0,31	15,22±1,14
	T2	9,63±0,69	12,78±0,71	7,85±0,49

Les teneurs étaient de 7,58 et 15,81 mg ER/g pour l'espèce de *Saccocalyx satureioides* et de 7,85 et 19,52 mg ER/g pour les échantillons de *Thymus vulgaris*. Les extraits issus du système Acé/H<sub>2</sub>O ont montré les teneurs les plus élevées en flavonoïdes en comparaison avec les deux autres systèmes. La figure 11 illustre les pourcentages en flavonoïdes par rapport aux phénols totaux pour le total des extraits analysés. Nous pouvons constater que les pourcentages en flavonoïdes des extraits issus du système MeOH/H<sub>2</sub>O sont les plus élevés pour les échantillons S1, S4 et T2 ; alors que pour les échantillons S2, S3 et T1 c'était les extraits du système Acé/H<sub>2</sub>O qui ont donné les pourcentages les plus élevés en flavonoïdes. Tous les extraits ont montré une richesse en flavonoïdes traduite par des pourcentages dépassant les 50% et qui ont atteint les 80-90% pour quelques extraits.



**Figure 11** : Histogramme représentant les Pourcentages des Flavonoïdes dans les différents extraits

Des corrélations positives ont été enregistrées entre les taux de phénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits (figure 12). Et ceci avec des coefficients de corrélation de 0,77 pour le total des extraits, 0,92 pour les extraits du système MeOH/H<sub>2</sub>O ; 0,83 pour le système Acé/H<sub>2</sub>O et 0,95 pour les extraits du système MeOH/Acé/H<sub>2</sub>O.



**Figure 13 :** Corrélations entre phénols totaux et flavonoïdes des différents extraits

### III. La composition chimique des extraits

#### III.1. La composition chimique des huiles essentielles

Le tableau 9, renferme les résultats de l'identification des constituants chimiques des différents échantillons d'huiles essentielles analysées.

L'analyse de l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* nous a permis d'identifier 27 composés représentant 90,46 à 93,46% de la totalité de l'huile essentielle. Les hydrocarbures monoterpéniques ont occupé 17,59% (S1) à 22,83% (S2), alors que les monoterpènes oxygénés ont constitué la majorité des HE avec 66,16% (S2) à 72,21% (S1). Les huiles essentielles de *S. satureioides* ont été pauvres en sesquiterpènes.

Le composé majoritaire de cette huile est l' $\alpha$ -terpinéol avec des pourcentages qui varient entre 30,57 (S1) et 33,99% (S2) suivi par le thymol qui occupe de 20,46 (S2) à 25,63% (S1) de la totalité de l'huile, puis le bornéol allant de 8,89 (S2) à 13,83% (S4).

**Biondi et al. (2006)** et **Zerroug et al. (2011)** ont trouvé que l'huile essentielle de *Saccocalyx satureioides* (Bou-Saada, Msila et Djelfa respectivement) est majoritairement composée d' $\alpha$ -terpinéol, de thymol et du bornéol, alors que **Muselli et al. (2008)** ont identifié le bornéol comme composé majoritaire, suivi par le thymol, l' $\alpha$ -terpinéol et le camphre pour *Saccocalyx satureioides* récolté d'Ain-sefra. Des chémotypes ou des temps de récolte différents, ou même des conditions environnementales différentes peuvent être la raison de ces différences observées entre les extraits des populations de *Saccocalyx satureioides* (**Biondi et al., 2006**).

Pour l'échantillon T1 de l'espèce *Thymus vulgaris* 30 composés représentant 96,98% de la totalité de l'huile ont été identifiés, avec des proportions d'hydrocarbures monoterpéniques et de monoterpènes oxygénés égales à 50,42% et 41,65%, respectivement. Le composé majoritaire de cette huile a été le  $\gamma$ -terpinene (28,88%) suivi par le thymol (23,81%) puis le *p*-cymène (13,35%). D'autres composés oxygénés sont aussi présents mais à des pourcentages plus faibles que les précédents : le thymol-méthyle-éther (8%), ainsi que le linalool (3,98%) et le bornéol (2,88%).

Si nous comparons ces résultats avec des études antérieures menées par nous-même de la même espèce récoltée en 2010 dans la même région et dans la même saison, nous remarquons une similitude de composition en composés majoritaires avec différentes proportions en gardant le  $\gamma$ -terpinene comme composé majoritaire principal (**tableau 9, Benabed, 2011**).

Plusieurs chémotypes de *Thymus vulgaris* ont été déterminé : géraniol,  $\alpha$ -terpineol, sabinene hydrate (thuyanol), linalool, carvacrol, thymol et 1,8-cinéole (**Keefover-Ring et al., 2009**). L'huile essentielle de cette espèce pourrait être qualifiée comme chémotype thymol malgré que le  $\gamma$ -terpinène soit son composé majoritaire car ce dernier n'est pas un produit final, mais il s'agit d'un précurseur du thymol (**Thompson et al., 2003**).

D'autre part **Thompson et al. (2003)** ont étudié la composition des huiles essentielles de plusieurs chémotypes de *Thymus vulgaris* et ont conclu que ceux du thymol et carvacrol contiennent des pourcentages élevés en  $\gamma$ -terpinène et *p*-cymène.

**Ghasemi Pirbalouti et al. (2013)** ont étudiés la composition de plusieurs échantillons de *Thymus vulgaris* collectés de l'Iran, et ont déterminé une composition riche en thymol (de 35,53 à 44,41%), en  $\gamma$ -terpinène ainsi qu'en *p*-cymène.

**Nikolić et al. (2014)** ont déterminé une composition riche en thymol (49,1%) et en *p*-cymène (20,01%) et ceci pour un échantillon de la Serbie.

Concernant l'échantillon T2, on note une forte teneur en monoterpènes oxygénés (66,39%) avec une dominance du carvacrol (62,55%) qui est un phénol très répandu dans les huiles essentielles de la famille des lamiacées. Les hydrocarbures monoterpéniques constituent 28,44% de l'ensemble de l'huile essentielle, avec deux composés majoritaires : le  $\gamma$ -terpinène avec 10,34% et le *p*-cymène avec 9,09%. Cette huile renferme une teneur faible en sesquiterpènes (0,82%).

Cette différence en composition pourrait être due à plusieurs facteurs, tels que le climat, la saison de récolte, le stade de développement et même aux profils génétiques des espèces (**Amarti et al., 2010 ; Jordán et al., 2006 ; İnan et al., 2011 ; Telci et al., 2010 ; Sellami et al., 2009**).



Tableau 9 : Composition chimique des différents échantillons d'huiles essentielles analysées par CG/SM.

Composé	IR (HP-5)	<i>Thymus vulgaris</i>			<i>Thymus algeriensis</i>		<i>Mentha pulegium</i> (*) MP	<i>Saccocalyx satureioides</i>			
		T (*) TV3	T1 / TV1	T2 / TV2	TD (*)/ TA1	TL (*) / TA2		S1/ SS1	S2/ SS2	S3/ SS3	S4/ SS4
$\alpha$ -thujène	913	1,1	1,13	0,71	0,05	0,26	0,05	0,59	0,65	0,80	0,84
$\alpha$ -pinène	924	0,92	0,82	1,71	3,58	7,84	0,06	1,28	1,29	1,84	2,05
Camphène	945	1,08	1,07	0,09	2,75	8,73	0,02	2,48	2,31	3,49	3,36
Sabinène	974	0,04	0,31	0,24	0,37	–	0,09	0,27	0,24	0,56	0,55
$\beta$ -pinène	981	0,19	0,16	0,30	0,13	1,43	0,4	0,18	0,24	0,27	0,35
$\beta$ - Myrcène	990	0,99	1,17	1,45	1,34	6,95	–	0,77	0,94	0,96	1,05
$\alpha$ -phellandrene	1009	0,19	0,18	0,14	0,01	0,02	0,01	0,05	0,04	0,06	0,06
3-Carène	1015	0,07	0,06	0,05	0,01	–	0,04	0,02	0,03	0,03	0,02
$\alpha$ -terpinène	1020	1,93	2,24	1,20	0,2	–	–	0,63	0,60	0,75	0,69
<i>p</i> -cymène	1027	20,04	13,35	9,09	0,97	0,69	–	6,45	11,33	6,02	6,36
Limonène	1030	0,17	0,49	2,76	1,11	–	0,75	0,87	0,96	1,10	1,13
Eucalyptol	1035	0,4	0,16	0,13	2,47	10,04	0,98	0,03	0,07	0,02	0,02
( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimène	1044	–	–	–	0,03	5,23	–	–	–	–	–
$\gamma$ -terpinène	1058	25,7	28,88	10,34	0,32	–	0,27	3,52	3,69	5,40	3,94
Cis-sabinène hydrate	1068	–	0,23	0,13	–	–	–	0,28	0,26	0,18	0,14
$\alpha$ -Terpinolène	1087	0,16	0,17	0,10	0,37	0,1	–	0,17	0,18	0,26	0,28
Linalool	1096	4,76	3,98	1,43	1,46	1,34	0,43	0,41	0,32	0,42	1,55
$\beta$ -thujone	1115	0,07	–	–	0,47	0,35	–	–	–	–	–
<i>allo</i> -ocimène	–	–	–	–	0,02	–	0,05	–	–	–	–
Camphre	1151	0,03	0,05	0,08	10,77	17,68	–	0,11	0,13	0,14	0,11
Neoisopulégol	–	–	–	–	–	–	1,02	–	–	–	–
Pinocarvone	–	–	–	–	2,99	1,65	–	–	–	–	–
Isopulégol	–	–	–	–	–	–	0,1	–	–	–	–
Bornéol	1172	2,54	2,88	0,27	5,58	5,68	1,06	12,00	8,89	13,78	13,83
Terpinen-4-ol	1183	0,7	0,53	0,47	2,56	–	0,27	1,24	1,31	1,62	1,83
<i>p</i> -cymen-8-ol	1191	–	0,13	0,12	–	–	–	0,23	0,28	0,16	0,17
$\alpha$ -terpineol	1198	0,28	0,53	0,34	3,12	1,25	–	30,57	33,04	30,99	31,10
Myrtenal	1205	–	0,05	0,33	–	–	–	0,25	0,21	0,22	0,24
Naphtalène	–	0,08	–	–	1,71	1,02	0,11	–	–	–	–
Thymol méthyl ether	1238	7,82	8,00	–	–	–	–	–	–	–	–
Nérol	–	–	–	–	0,63	0,96	–	–	–	–	–

Isopulégone		–			–	–	31,55				
Pulégone	<b>1250</b>	–			–	–	23,37				
Carvone	<b>1252</b>	–	0,10	0,02	0,17	0,02	3,32				
Acétate de linalyl	<b>1259</b>	–			0,33	–	1,71				
Isopulegylacétate		–			–	–	6,5				
Bornylacetate	<b>1293</b>	–			4,84	0,5	1,05				
Thymol	<b>1296</b>	20,83	23,81	0,78	0,03	0,04	–	25,63	20,46	22,15	20,17
Carvacrol	<b>1306</b>	2,03	1,59	62,55	0,02	0,03	–	1,77	1,52	1,59	1,69
Eugenol	<b>1363</b>	–			–	–	0,22				
$\alpha$ -terpinenyl acétate		–			27,32	–	–				
Neryl acétate		–			1,69	5,76	0,2				
Acetate de geranyl	<b>1386</b>	–			0,42	0,45	–				
$\beta$ -caryophyllene	<b>1429</b>	2,28	3,10	0,42	0,12	0,22	1,78	0,26	0,60	0,16	0,76
Aromadendrene	<b>1471</b>	0,1			0,16	0,05	–				
<i>allo</i> -aromadendrene		0,05			0,07	0,11	–				
Germacrene D	<b>1498</b>	0,03			0,25	0,01	0,57				
Germacrene A		0,9			0,11	0,51	–				
$\beta$ -Bisabolene	<b>1505</b>		1,28								
$\delta$ -cadinene	<b>1532</b>	–	0,23	0,15	0,08	–	–	0,37	0,30	0,18	0,33
Nerolidol	<b>1594</b>	–			0,04	0,05	–				
Germacrene B		–			0,18	0,81	–				
Ledol		0,3			2,72	0,42	–				
Spathulenol		0,29			0,77	–	–				
Caryophyllene oxyde	<b>1595</b>	0,4	0,30	0,25	0,96	0,86	0,4	0,56	0,57	0,31	0,30
$\Sigma$ % identifié		<b>96,47</b>	<b>96,98</b>	<b>95,65</b>	<b>83,30</b>	<b>81,06</b>	<b>76,38</b>	<b>90,99</b>	<b>90,46</b>	<b>93,46</b>	<b>92,92</b>
Hydrocarbures Monoterpéniques		52,98	50,42	28,44	13,71	41,29	2,67	17,59	22,83	21,74	20,84
Monoterpène oxygénés		39,14	41,65	66,39	64,13	36,73	70,96	72,21	66,16	71,07	70,69
Sesquiterpènes		3,36	4,61	0,57	0,79	0,9	2,35	0,63	0,9	0,34	1,09
Sesquiterpenes oxygénés		0,99	0,3	0,25	4,67	2,14	0,4	0,56	0,57	0,31	0,3

(\*): Magister Benabed (2011)

Plusieurs espèces appartenant à la famille des *Lamiaceae* présentent des compositions similaires, avec une forte teneur en terpènes phénoliques (thymol ou carvacrol) suivie par un pourcentage élevé en  $\gamma$ -terpinène et *p*-cymène. Quelques exemples sont cités ci-dessous dans le tableau 10.

**Tableau 10** : Les composés majoritaires des HE de quelques espèces de Lamiacées

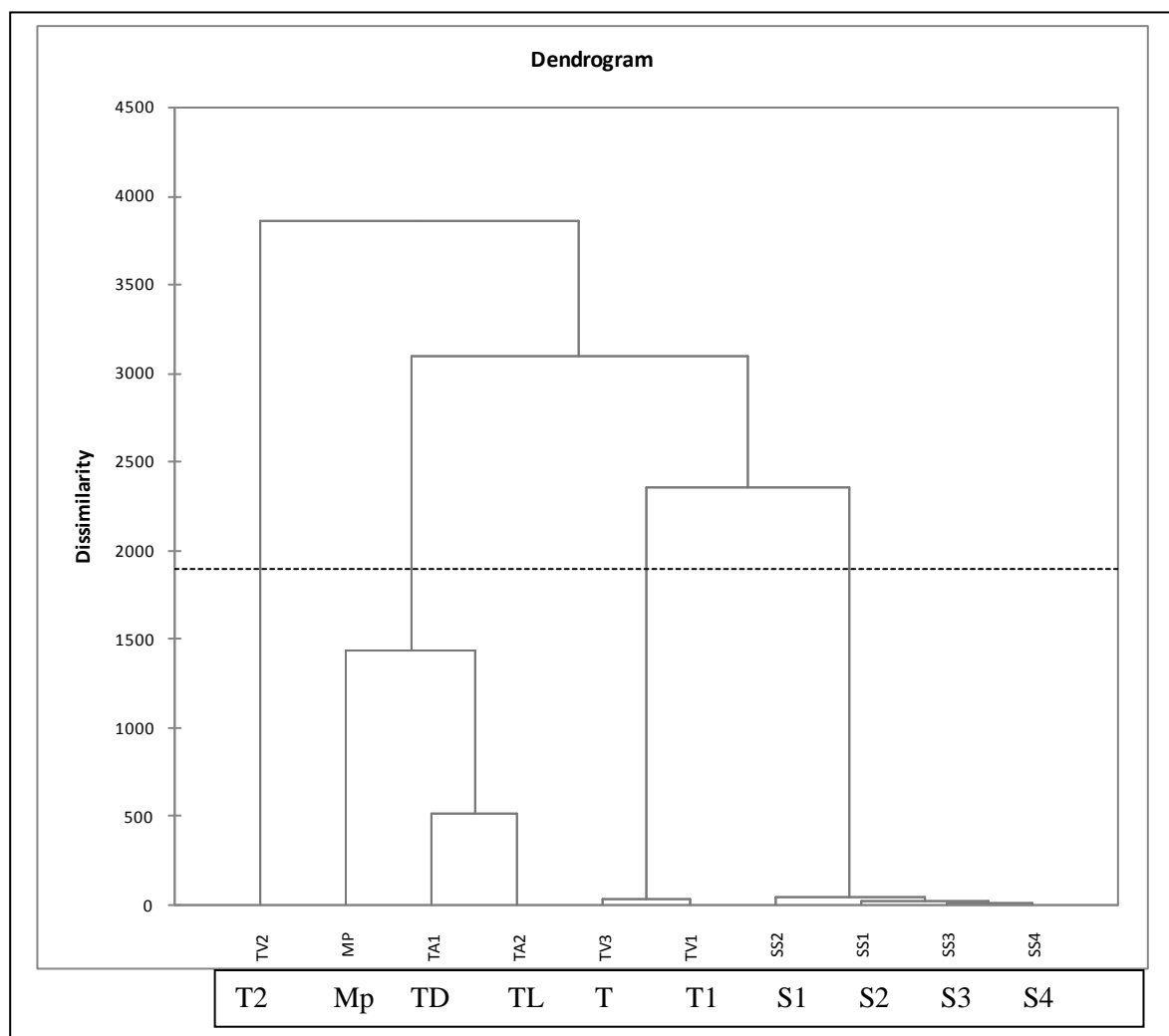
	Thymol	Carvacrol	$\gamma$ -terpinène	<i>p</i> -cymène	Référence
<i>Thymbra spicata</i>	-	59,51	16,18	10,34	<b>İnan et al., 2011</b>
	0,1	75,5	11,6	9,2	<b>Baydar et al., 2004</b>
<i>Satureja cuneifolia</i>	0,1	53,3	27,7	7,3	
<i>Thymus capitatus</i>	29,3	10,8	8,4	26,4	<b>Cosentino et al., 1999</b>
<i>Thymus herba-barona</i>	50,3 / 46,9	2,9 / 20,6	6,1 / 4,6	27,6 / 5,2	
<i>Thymus pulegioides</i>	26	21	8,8	7,8	<b>Pinto et al., 2006</b>

Dans une étude antérieure, nous avons étudié la composition des huiles essentielles et les activités biologiques de *Thymus vulgaris*, *Mentha pulegium* et *Thymus algeriensis* qui sont des espèces de la famille des *Lamiaceae*. Comme le *Saccocalyx satureioides* est une plante endémique en Algérie appartenant à la même famille des espèces citées au-dessus, et vue le manque des informations scientifiques sur la composition de ses huiles essentielles et leurs activités, il nous a parait intéressant de comparer les résultats obtenus dans cette étude avec d'autres trouvés dans nos études précédentes.

Les huiles essentielles de *Saccocalyx satureioides*, ont montré des similitudes avec les huiles essentielles de *Mentha pulegium* et *Thymus algeriensis* (TD) traduites par des pourcentages élevés en monoterpènes oxygénés d'une part, et par la présence remarquable de l' $\alpha$ -pinène, du camphène, du bornéol et de l' $\alpha$ -terpinéol dans toutes les huiles de *Saccocalyx satureioides* et de *Thymus algeriensis* (les deux échantillons) d'autre part.

Les échantillons de *Saccocalyx satureioides* ont eu comme composés majoritaires communs avec les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* les composés suivant : le *p*-cymène, le  $\gamma$ -terpinène, le bornéol, le thymol et la carvacrol.

Afin de trouver une relation entre les compositions des huiles essentielles étudiées, nous avons tracé le dendrogramme de la classification ascendante hiérarchique CAH, ainsi que l'analyse en composantes principales ACP (figures 13, 14).



**Figure 13:** Dendrogramme de la classification ascendante hiérarchique CAH

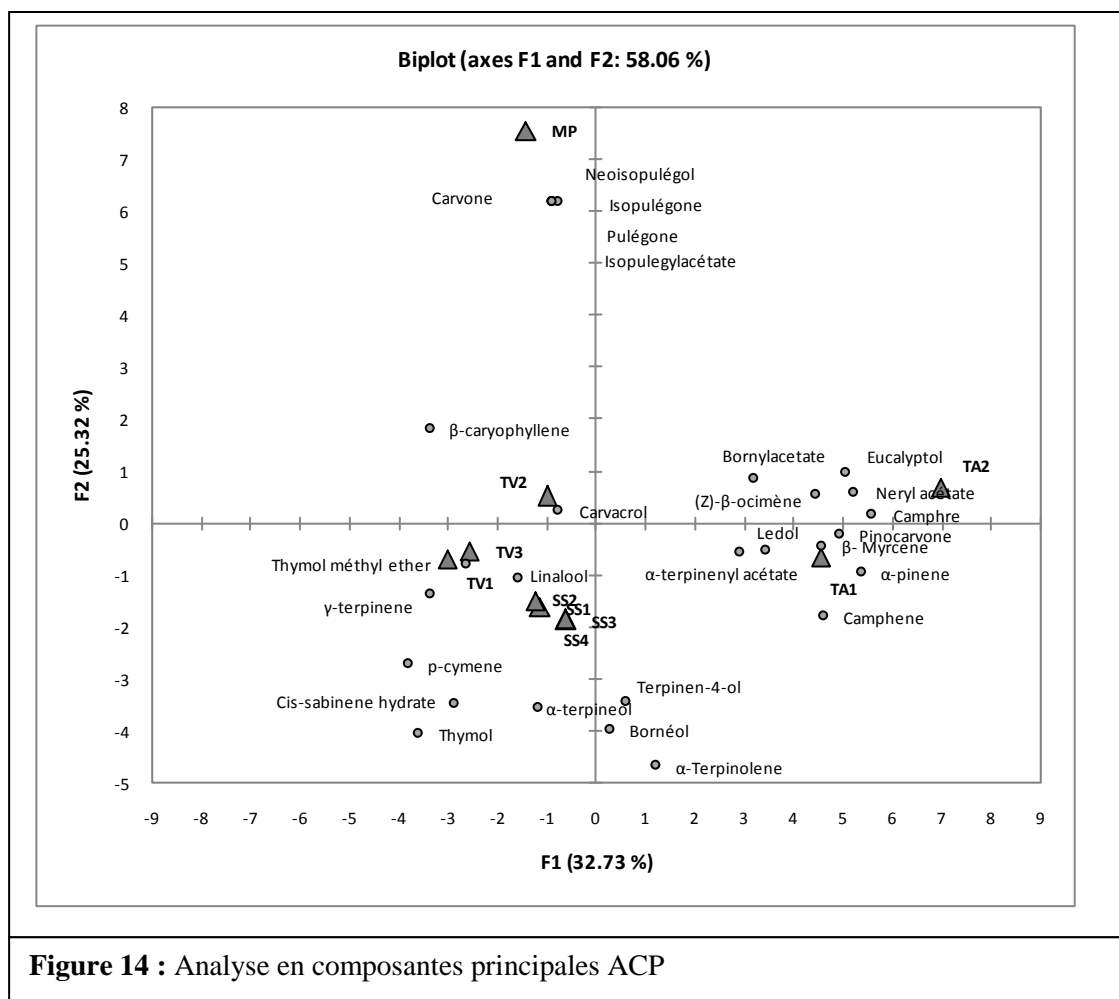


Figure 14 : Analyse en composantes principales ACP

L'analyse du dendrogramme de la classification ascendante hiérarchique CAH ainsi que les résultats de l'analyse en composantes principales ACP montre l'existence de quatre classes : classe 1 (SS1 à SS4), classe 2 (TV1 et 3), classe 3 (TA1 et 2) et classe 4 qui contient un seul individu (TV2). Ces résultats montrent que les échantillons (individus) de *Saccocalyx satureioides* sont très semblables les uns aux autres, en terme de composition chimique en huiles essentielles. Par contre, pour le *Thymus vulgaris*, il existe une certaine différence ou variabilité de composition (ou même présence de chémotypes).

Au terme de différence entre les quatre échantillons de *Saccocalyx satureioides*, on peut remarquer que l'échantillon SS2 diffère du reste des individus par sa forte teneur en *p*-cymène (11,33%) et simultanément, par un pourcentage légèrement plus faible de Bornéol (8,89) et ceci en comparaison avec le reste des individus SS1,3 et 4 dont les intervalles de variation des teneurs en *p*-cymène et en Bornéol sont (6,02-6,45%) et (12-13,83%), respectivement.

Pour le *Thymus vulgaris*, l'individu TV2 semble être très différent des autres TV1 et 3. Cette différence est principalement due dans ce cas à la forte teneur en carvacrol (62,55% contre

1,59% et 2,03%), et elle est aussi due à la différence de composition pour le Thymol méthyl ether (0% contre 7,82% et 8%).

Pour les 2 individus de *Thymus algeriensis*, on remarque qu'ils présentent des différences notables pour plusieurs constituants. L'individu TA2 est distinguée par les composés majoritaires suivant :  $\alpha$ -pinene 7,84%, Camphene 8,73%,  $\beta$ - Myrcene 6,95% et Eucalyptol 10,04%, et qui sont minoritaire pour l'individu TA1 ; alors que le TA1 été distingué entre autres, par un autre composé majoritaire  $\alpha$ -terpinenyl acétate 27,32%, pratiquement absent dans TA2.

La différence majeure entre les individus de *Saccocalyx satureioides* et ceux de *Thymus vulgaris*, réside dans le fait que, les deux composés minoritaires de *Saccocalyx satureioides* ( $\gamma$ -terpinene et Thymol méthyl ether) sont en réalité des composés majoritaires dans le *Thymus vulgaris*. Inversement, le composé majoritaire de *Saccocalyx satureioides* ( $\alpha$ -terpinéol) est devenu un composé minoritaire dans le *Thymus vulgaris*.

## **II.2. Tentative d'identification des composés phénoliques dans les extraits**

Les extraits de chaque échantillon de plante ont été préparés par macération dans une première étape dans trois systèmes de solvants différents, donc pour chaque échantillon nous avons obtenu trois extraits. Deux d'entre eux ont subi l'analyse par HPLC, il s'agit des fractions d'acétate d'éthyle des systèmes MeOH/H<sub>2</sub>O et MeOH/Ac<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O. En comparant la composition des extraits issus des deux systèmes de solvants, aucune différence n'est observée du point de vue qualitatif.

Le tableau 11 regroupe les composés phénoliques identifiés pour les différents extraits analysés. L'identification a été effectuée par les spectres UV des composés et par la comparaison de leurs fragments (m/z) issus de l'analyse par spectrométrie de masse avec ceux des références bibliographiques.

Pour les extraits de *Saccocalyx satureioides* 12 composés ont été identifiés, avec une prédominance de l'acide rosmarinique et ceci pour tous les extraits analysés (figures 15, 16). Ce résultat s'accorde avec celui de **Ziani et al., (2018)** qui ont identifié l'acide rosmarinique comme composé majoritaire pour l'infusion de *Saccocalyx satureioides*. Ce composé caractérise plusieurs espèces de la famille des *Lamiaceae* (**Trivellini et al., 2016**)

Dans l'ensemble des lamiacées, on trouve fréquemment de hauts niveaux d'acide rosmarinique caractérisant les espèces de la sous-famille des *Nepetoideae* (**Petersen et**

**Simmonds, 2003**), il s'agit de la sous-famille à laquelle appartient l'espèce *Saccocalyx satureioides*, ainsi que *Thymus vulgaris*.

D'autres composés ont aussi caractérisé les extraits de *Saccocalyx satureioides* comme l'acide cafeïque, l'acide isomelitrique, l'eriodictyol, le tetrahydroxyisoflavone-O-hexoside, l'isoscuteallarein-7-O-allosyl (1-2) glucose, le kaempferol-methoxy-methylether et le cirsimaritin.

**Mohamadi et al. (2015)**, ont isolé et identifié les composés antioxydants présents dans les extraits phénoliques de *Saccocalyx satureioides* (région de Bechar) il s'agit du picéol, la vanilline, l'aldéhyde ferulique, le 3,3'-bis(3,4- dihydro-4-hydroxy-6,8-dimethoxy-2H-1-benzo-pyrane), le 3,3'-bis (3,4-dihydro-4-hydroxy-6-methoxy-2H-1-benzo-pyrane), l'acide diméthylcaféique, le balanophonine, le 7-méthyl-sudachitine, l'acide caféique, l'acide p-coumarique, les dérivés d'isoscuteallareine, l'apigénine 7-O-[6''-trans-p-coumaroyl]-β-d-glucopyranoside, le sideritiflavone et la quercétine. A part le dérivé d'isoscuteallareine, et l'acide caféique les autres composés ont été absents dans nos extraits, cette différence en composition pourrait être due à la différence de l'origine de l'échantillon de plante ainsi que dans la diversité dans les méthodes d'extraction et d'analyse employées dans les deux études.

Pour les extraits des deux échantillons de *Thymus vulgaris*, on note la présence remarquable d'eriodictyol-O-hexoside au niveau des extraits de l'échantillon T2, alors que les extraits de l'échantillon T3 étaient caractérisés par l'acide rosmarinique (figures 17, 18).

Les extraits de *Thymus vulgaris* ont été aussi caractérisés par la présence des composés suivants : l'acide caféique, l'isoscuteallarein-7-O-allosyl (1-2) glucose, l'eriodictyol, l'acide isomelitrique, ainsi le 3-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone et le cirsimaritin pour les extraits de T2.

**Zheng et Wang (2001)**, ont identifié la composition de l'extrait phénolique de *Thymus vulgaris* collecté à partir du jardin national des herbes (Etats unis), ce dernier a été caractérisé par la présence d'acide caféique, la luteoline, l'acide rosmarinique et l'hispiduline avec la prédominance d'acide rosmarinique.

D'autre part les composés suivants : l'acide caféique, l'acide quinique, l'acide p-coumarique, les dérivés d'acide caféoylquinique, la quercétine-7-o-glucoside, l'acide ferulique, l'acide cinnamique, l'acide carnosique, l'acide rosmarinique, le méthyl rosmarenate, l'apigénine, la nareingénine, la luteoline-7-o-rutinoside et les dérivés d'acide ferulique ont été identifiées pour

un extrait méthanolique de *Thymus vulgaris* (échantillon collecté d’Egypte), avec l’acide cinnamique comme composé majoritaire (**Roby et al., 2013**).

Le tetrahydroxyisoflavone-O-hexoside, le kaempferol-methoxy-methylether l’isomère de 3’-O-methylorobol et la quercetine-tetramethylether (3,5-dihydroxy-6,7,4’-trimethoxyflavone) ont caractérisé les extraits de l’espèce *Saccocalyx satureioides*, alors qu’ils étaient totalement absents de ceux de *Thymus vulgaris*.



Tableau 11 : Composition chimique des extraits phénoliques																		
N° du pic	λ (nm)	M-H	MS2	MS3	Tentative identification	<i>Saccocalyx satureioides</i>								<i>Thymus vulgaris</i>				Référence
						S1		S2		S3		S4		T1		T2		
						M/E	M/A/E	M/E	M/A/E	M/E	M/A/E	M/E	M/A/E	M/E	M/A/E	M/E	M/A/E	
						tr (min)												
1	207	117	75	/	nd	1,52	1,51	1,42	1,41	0,76	1,41	1,97	1,41	1,52	1,43	1,25	1,36	
2	207	125	97	/	nd	4,86	3,56	4,3	2,2	3,63	2,35	2,46	2,48	1,91	1,43	2,13	3,26	
3	207/265	124	106	/	nd	1,42	1,42	3,68	2,27	3,18	1,64	-	-	3,81	2,41	1,61	1,3	
4	222	137	110	/	nd	-	6,5	6,67	6,77	6,69	6,54	6,11	6,49	6,7	6,7	6,69	6,69	
5	243/298/314/327	179	135	91	Acide cafféique	-	8,74	8,74	8,83	8,77	8,73	8,9	8,63	8,78	8,78	8,78	8,77	Hossain <i>et al.</i> , 2010
6	368/385/ 285	373	327	165	nd	10,27	10,28	10,27	10,34	10,3	10,27	10,38	10,15	10,3	10,33	10,32	10,31	
7	280/341/347/368	447	285	285	Tetrahydroxyisoflavone-O-hexoside	12,08	12,1	12,09	12,15	12,12	12,11	12,14	12,00	-	-	-	-	Ye <i>et al.</i> , 2012
8	198/284/337/225	449	287	151	Eriodictyol-O-hexoside	13,37	13,41	13,39	13,44	13,42	13,42	13,45	13,29	12,12	12,12	-	9,14	Pereira <i>et al.</i> , 2013
9	267/283/339/368	549	417	285	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	13,32	13,32	-	-	
10	230/283/ 342	417	285	285	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	13,48	13,48	-	-	
11	197/234/328	359	161	133	Acide rosmarinique	13,76	13,8	13,78	13,84	13,81	13,81	13,84	13,69	13,82	13,82	13,87	13,83	Pereira <i>et al.</i> , 2013
12	249/270/331/368	609	285	285	Isoscutellarein-7-O-allosyl (1-2) glucoside	14,19	14,2	14,2	14,24	14,28	14,26	14,27	14,11	14,25	14,21	14,28	14,29	Pereira <i>et al.</i> , 2012
13	242/324/ 368	537	493	359	Acide isomelitrique [3'-O-(8''-Z-Caffeoyl) rosmarinic acid]	14,48	14,51	14,5	14,56	14,53	14,53	14,56	14,4	-	-	-	14,58	Pereira <i>et al.</i> , 2013

14	248/285/ 327/368	611	323	221	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	15,28	15,28	-	-	
15	244/324/ 368	697	359	161	nd	15,29	15,32	15,34	15,37	15,36	15,38	15,44	15,22	15,13	-	-	-	
16	234/288/ 335/367	287	151	107	Eriodictyol	15,72	15,75	15,74	15,79	15,77	15,76	15,81	15,64	15,78	15,78	15,83	15,81	Catarino <i>et al.</i> , 2015
17	343/367/ 283/247	329	314	299	Kaempferol-methoxy-methylether	16,33	16,36	16,34	16,39	16,38	16,36	16,41	16,26	-	-	-	-	Falcão <i>et al.</i> , 2012
18	244/325	551	519	339	nd	16,89	16,92	16,91	16,96	16,94	16,94	16,97	16,9	-	-	-	-	
19	247/330/ 368	373	179	135	nd	-	-	-	-	-	-	-	16,81	16,91	16,9	17,00	16,97	
20	252/290/ 343/367	359	344	329	Quercetin-tetramethylether / 3,5-dihydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone	17,51	17,54	17,53	17,58	17,56	17,56	17,6	17,45	-	-	-	-	Falcão <i>et al.</i> , 2012 Han <i>et al.</i> , 2008
21	247/289/ 325/331	271	151	107	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	17,66	17,68	-	-	Mena <i>et al.</i> , 2012
22	333/327/ 340/368	553	521	343	nd	18,8 19,27	19,34	18,85 19,28	18,7 19,38	18,9 19,32	18,88 19,32	18,93 19,35	19,23	-	-	19,00 19,38	19,36	
23	348/368/ 268/254	299	145	73	nd	19,9	19,92	19,92	-	19,95	19,95	19,94	19,84	-	-	-	-	
24	345/351/ 367/253	299	284	284	Isomère de 3'-O-methylorobol	-	19,92	19,92	19,95	19,95	19,95	19,94	19,84	-	-	-	-	Ye <i>et al.</i> , 2012
25	283/331	343	328	313	3-hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone	20,35	20,36	-	20,38	-	20,36	20,36	20,48	20,48	20,48	-	-	Han <i>et al.</i> , 2008
26	335/276/ 368/378	313	298	283	Cirsimaritin	20,76	20,77	20,77	20,79	20,79	20,79	20,77	20,71	19,91	19,91	-	-	Hossain <i>et al.</i> , 2010
27	285	377	359	/	nd	-	-	-	23,23	-	-	-	-	-	-	-	-	
28	368/385/359	147	103	59	nd	28,16	25,76	25,75	25,78	25,77	25,76	-	28,18	26,6	25,79	-	-	

29	255/280/319	163	119	75	nd	28,4	28,66	28,65	28,53	27,61	28,07	27,69	28,48	28,26	28,4	-	-	
nd : non determine ; M/E : MeOH/H <sub>2</sub> O ; M/A/E : MeOH/Ac <sup>é</sup> /H <sub>2</sub> O																		

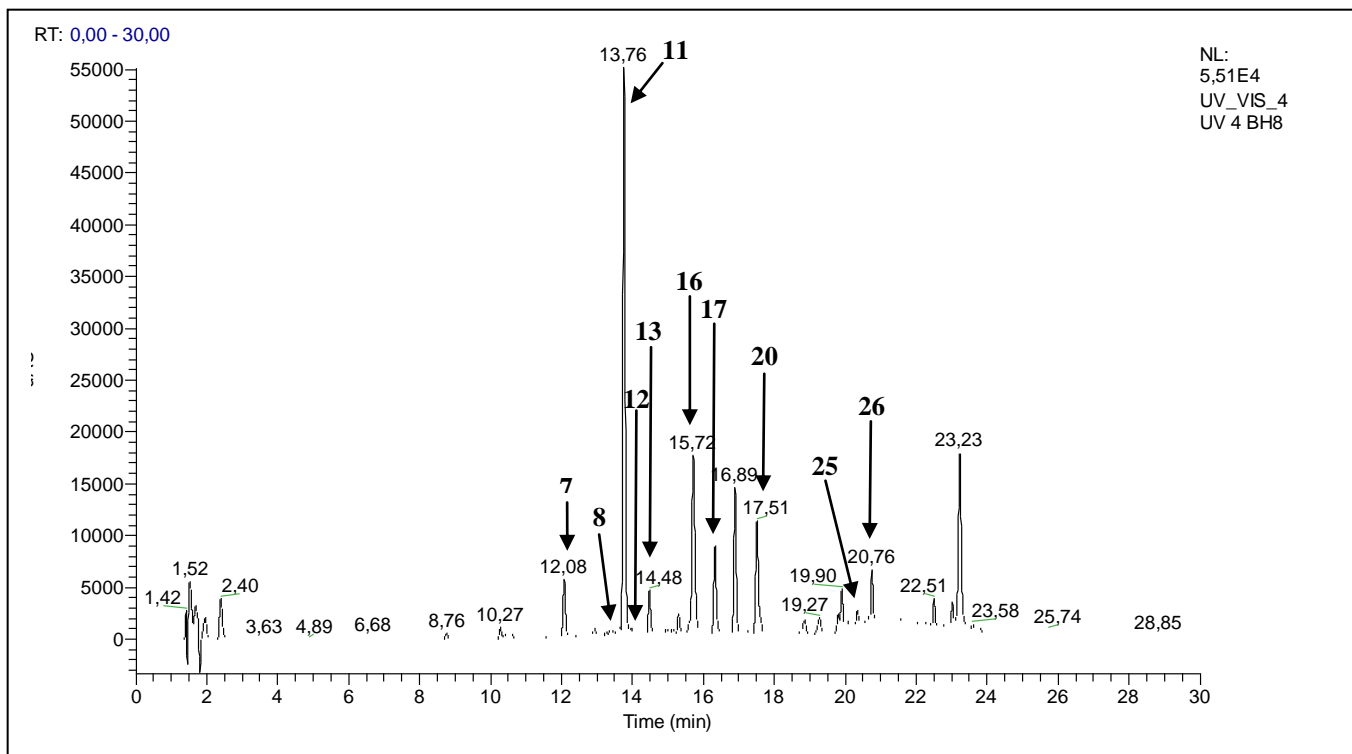


Figure 15 : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon S1 (système MeOH/H<sub>2</sub>O) à 280nm

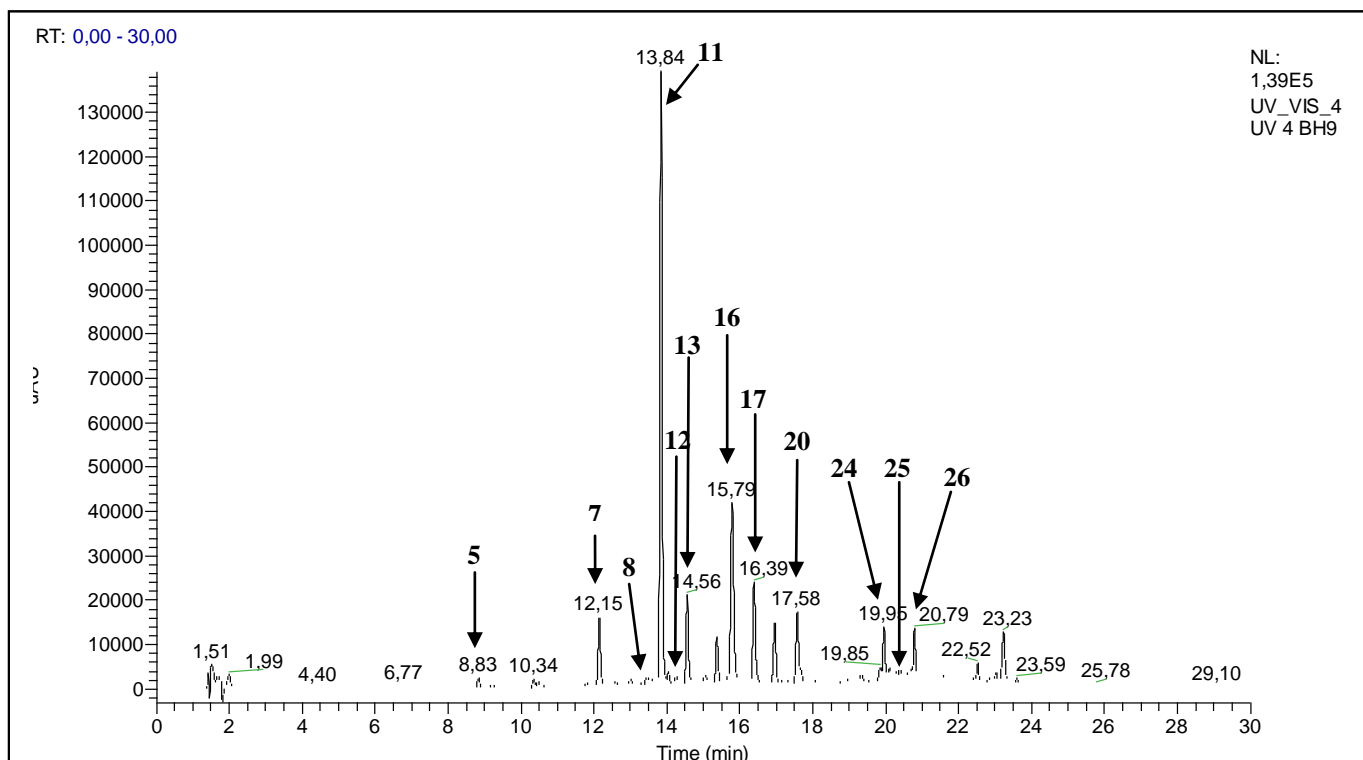


Figure 16 : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon S2 (système MeOH/Ac/H<sub>2</sub>O) à 280nm

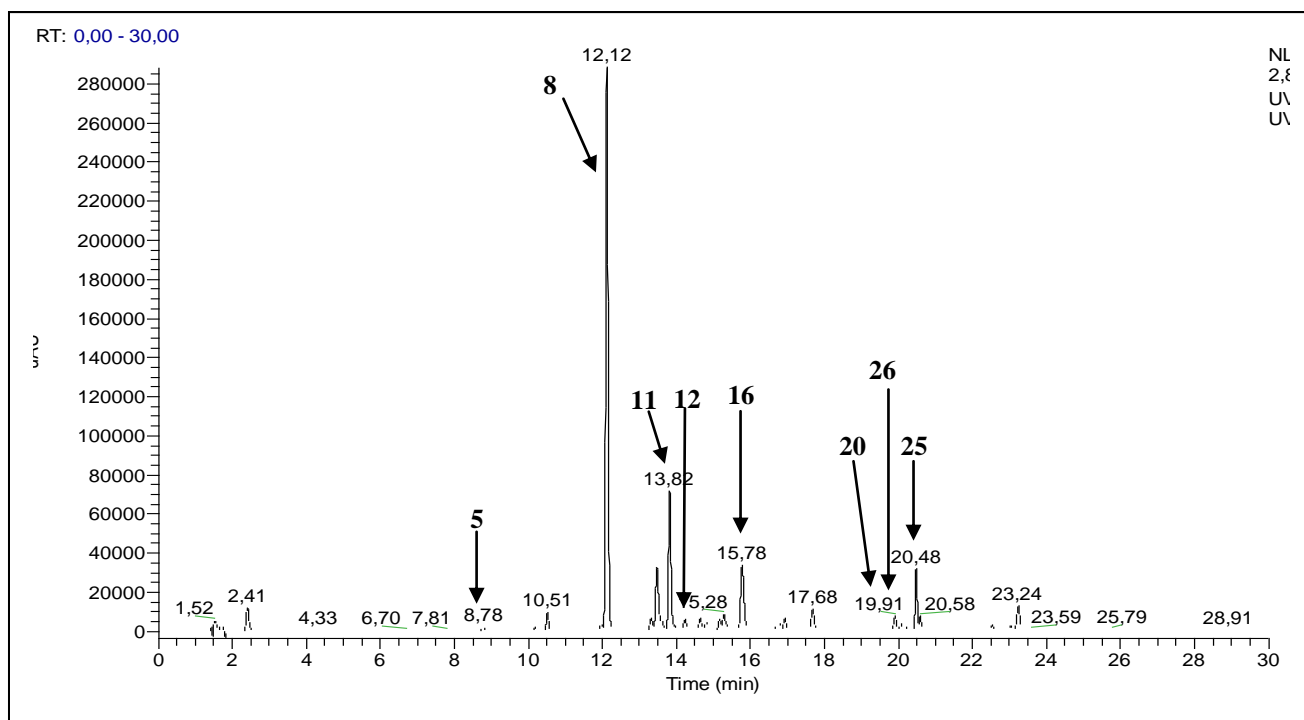


Figure 17 : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon T1 (système MeOH/Acé/H<sub>2</sub>O) à 280nm

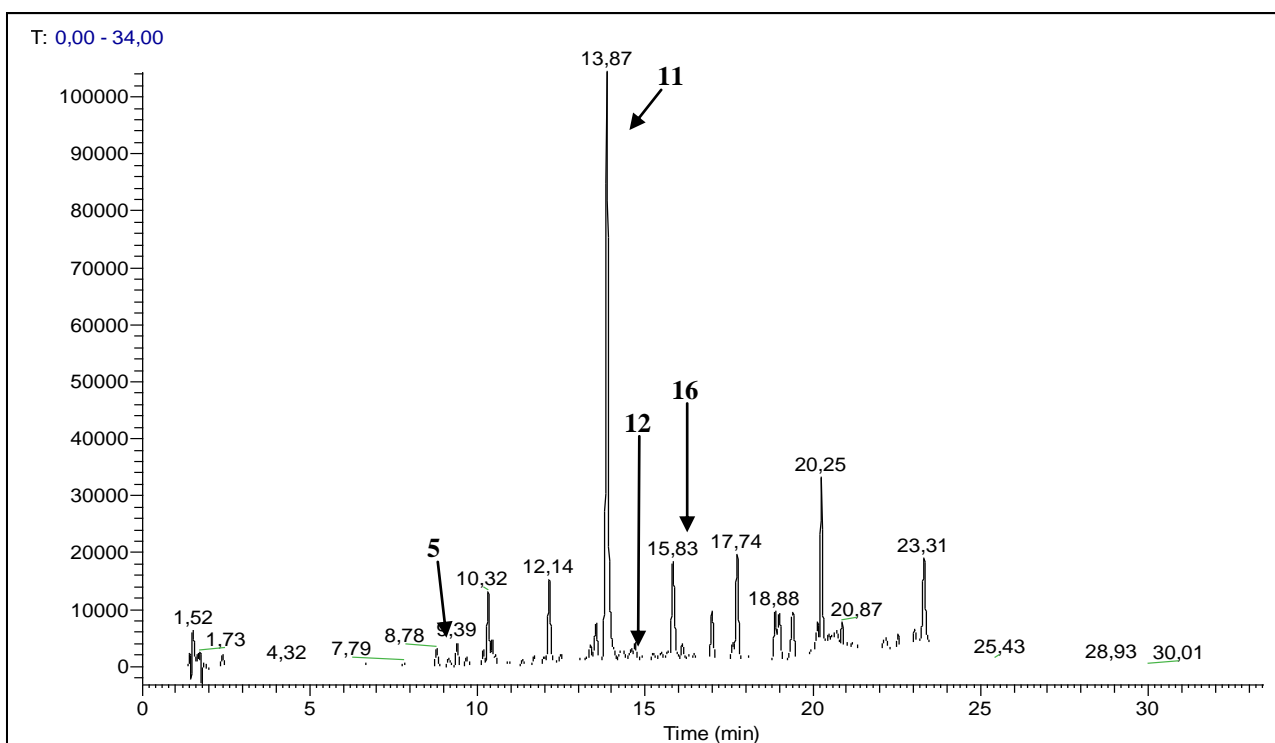


Figure 18 : Chromatogramme de l'extrait de l'échantillon T2 (système MeOH/H<sub>2</sub>O) à 280nm

## IV. L'activité antioxydante

### IV. 1. L'activité antioxydante des huiles essentielles

#### IV. 1. 1. Le test du DPPH

Différentes concentrations ont été employées pour chaque huile essentielle, et les pourcentages d'inhibition ont été calculées pour chaque concentration, les graphes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration (voir annexes) nous ont permis de déterminer les valeurs des  $IC_{50}$ ; Ces valeurs correspondent aux concentrations nécessaires en substrat (dans ce cas en huile essentielle) pour piéger 50% du radical libre DPPH<sup>\*</sup> (Molyneux, 2004).

Le tableau 12 renferme les valeurs des  $IC_{50}$  des différents échantillons d'huiles essentielles ainsi que les valeurs des  $IC_{50}$  de quelques antioxydants de référence, en guise de comparaison. Les huiles essentielles étudiées dans ce travail ont montré des  $IC_{50}$  supérieures à celles des antioxydants de référence, ce qui signifie une activité antioxydante plus faible.

L'huile essentielle la plus active a été celle de l'espèce de *Thymus vulgaris* (T2) avec une valeur d' $IC_{50}$  de 1,26 mg/ml. Pour l'espèce *Saccocalyx satureoides* les valeurs des  $IC_{50}$  étaient entre 1,83 et 2,77 mg/ml. L'échantillon S4 a exprimé l'activité la plus élevée avec l' $IC_{50}$  la plus faible.

Ces résultats sont comparables avec ceux de Cao *et al.* (2009) et Tepe *et al.* (2005) qui ont déterminé des  $IC_{50}$  égales à 1,23 mg/ml et 2,67 mg/ml pour les huiles essentielles de *Mosla chinensis* Maxim et *Thymus sipylus* subs. *sipylus* var. *sipylus* (*Lamiaceae*), respectivement.

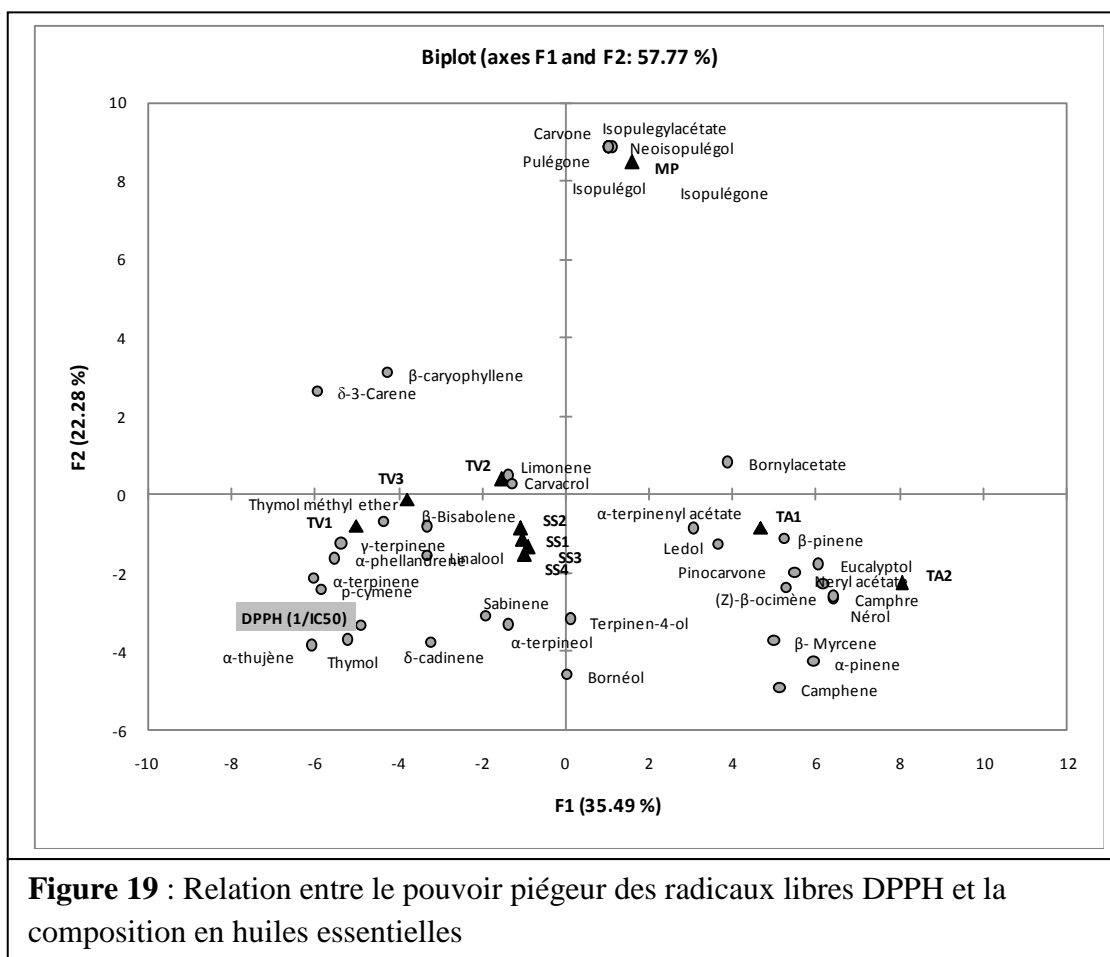
**Tableau 12 :**  $IC_{50}$  des différents échantillons d'huiles essentielles (Test DPPH)

		$IC_{50}$ (mg/ml)
<i>Saccocalyx satureoides</i>	S1	2,77 ± 0,01
	S2	2,34 ± 0,01
	S3	2,04 ± 0,06
	S4	1,83 ± 0,06
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	3,53 ± 0,27
	T2	1,26 ± 0,13
<b>Standards</b>		<b><math>IC_{50}</math> (µg/ml)</b>
Acide ascorbique		7,36 ± 0,27
α-tocophérol		23,18 ± 0,09
Butylhydroxyansole (BHA)		11,20 ± 0,03

La différence observée au niveau des valeurs des IC<sub>50</sub> peut être expliquée par la teneur des huiles en composés phénoliques. En effet, les phénols sont connus comme des antioxydants très efficaces. Ainsi, plus l'huile essentielle est riche en composés phénoliques plus son activité antioxydante semble être améliorée.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur les valeurs des IC<sub>50</sub>, tel que le solvant utilisé, la concentration de la solution du DPPH et la durée d'incubation (Sharma et Baht, 2009).

La relation entre le pouvoir piégeur des radicaux libres DPPH et la composition en huiles essentielles des plantes de la présente étude ainsi que celles de notre étude antérieure a été étudié en utilisant aussi l'ACP (figure 19).



**Figure 19** : Relation entre le pouvoir piégeur des radicaux libres DPPH et la composition en huiles essentielles

Les résultats montre que le pouvoir antioxydant le plus élevé est fortement corrélé avec une plus grande teneur relative de composés minoritaires suivant : α-thujène, thymol, δ-cadinène, α-terpinène, p-cymène, et α-phellandrène, et dans une moindre mesure le composé majoritaire γ-terpinène.

#### IV. 1. 2. Le test de $\beta$ -carotène

Différentes concentrations ont été employées pour chaque huile essentielle, et les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration, les graphes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration (voir annexes) nous ont permis de déterminer les valeurs des  $IC_{50}$ , qui représentent la neutralisation de 50% des radicaux peroxydes et ceci par les composants des différents échantillons testés. Les valeurs des  $IC_{50}$  sont mentionnées dans le tableau 13.

Les  $IC_{50}$  ont été de 2,19 et 3,09 mg/ml pour les huiles de l'espèce *Saccocalyx satureoides*, alors que pour *Thymus vulgaris* les  $IC_{50}$  étaient de 1,51 et 0,79 mg/ml pour les échantillons T1 et T2 respectivement.

Nous pouvons constater que les huiles essentielles de l'espèce *Thymus vulgaris* sont plus actives que celle de *Saccocalyx satureoides*, ceci pourrait être dû à leurs composition riche en phénols (62,55% de carvacrol pour T2).

**Tableau 13 :** Les valeurs des  $IC_{50}$  des différents échantillons d'huiles essentielles (Test  $\beta$ -carotène)

		$IC_{50}$ (mg/ml)
<i>Saccocalyx satureoides</i>	S1	2,45 $\pm$ 0,01
	S2	2,19 $\pm$ 0,07
	S3	2,95 $\pm$ 0,01
	S4	3,09 $\pm$ 0,06
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	1,51 $\pm$ 0,01
	T2	0,79 $\pm$ 0,01
<b>Standards</b>		<b><math>IC_{50}</math> (<math>\mu</math>g/ml)</b>
BHT		26,96 $\pm$ 2,30

#### IV. 1. 4. Le test de réduction de cuivre (CUPRAC)

L'activité antioxydante estimée par ce test est calculée par rapport à l'acide ascorbique, et exprimée en équivalent de ce dernier. Afin d'estimer les valeurs des AAEC, les graphes représentant les absorbances en fonction de la concentration ont été tracés (voir annexes), ces derniers montrent une corrélation positive entre ces deux variables. Les différentes valeurs d'AAEC calculées sont regroupées dans le tableau 14.



Des activités similaires ont été observées pour les différents échantillons de *Saccocalyx satureoides* avec des valeurs d'AAEC allant de 0,34 à 0,37.

**Tableau 14** : Les valeurs d'AAEC des différents échantillons (test CUPRAC)

		AAEC
<i>Saccocalyx satureoides</i>	S1	0,37 ± 0,003
	S2	0,31 ± 0,002
	S3	0,33 ± 0,004
	S4	0,31 ± 0,01
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	0,43 ± 0,003
	T2	1,03 ± 0,02
<b>Standards</b>		
BHT		1,13 ± 0,03
L'α-tocophérol		0,66 ± 0,01

Concernant *Thymus vulgaris*, des AAEC égales à 0,43 et 1,03 ont été estimées pour les échantillons T1 et T2 respectivement. L'huile essentielle de l'échantillon T2 a été la plus active, avec une activité presque égale à celle de l'acide ascorbique et bien supérieure à l'α-tocophérol. Cette activité pourrait être attribuée à son composé majoritaire le carvacrol, un phénol connu pour son activité antioxydante.

Le test du CUPRAC est un test qualifié comme facile à réaliser, qui met en jeu un réactif plus stable et accessible. Cette méthode peut à la fois mesurer l'activité des antioxydants hydrophiles ainsi que ceux lipophiles (Apak *et al.*, 2008) ce qui lui fait un test bien adapté pour estimer l'activité réductrice des huiles essentielles.

La relation entre l'activité antioxydante (mesurée par les trois tests DPPH, β-carotène et CUPRAC), et la composition en huiles essentielles des plantes *Saccocalyx satureioides* (SS1-4) et *Thymus vulgaris* (TV1&2) a été étudié en utilisant l'ACP (figure 20).

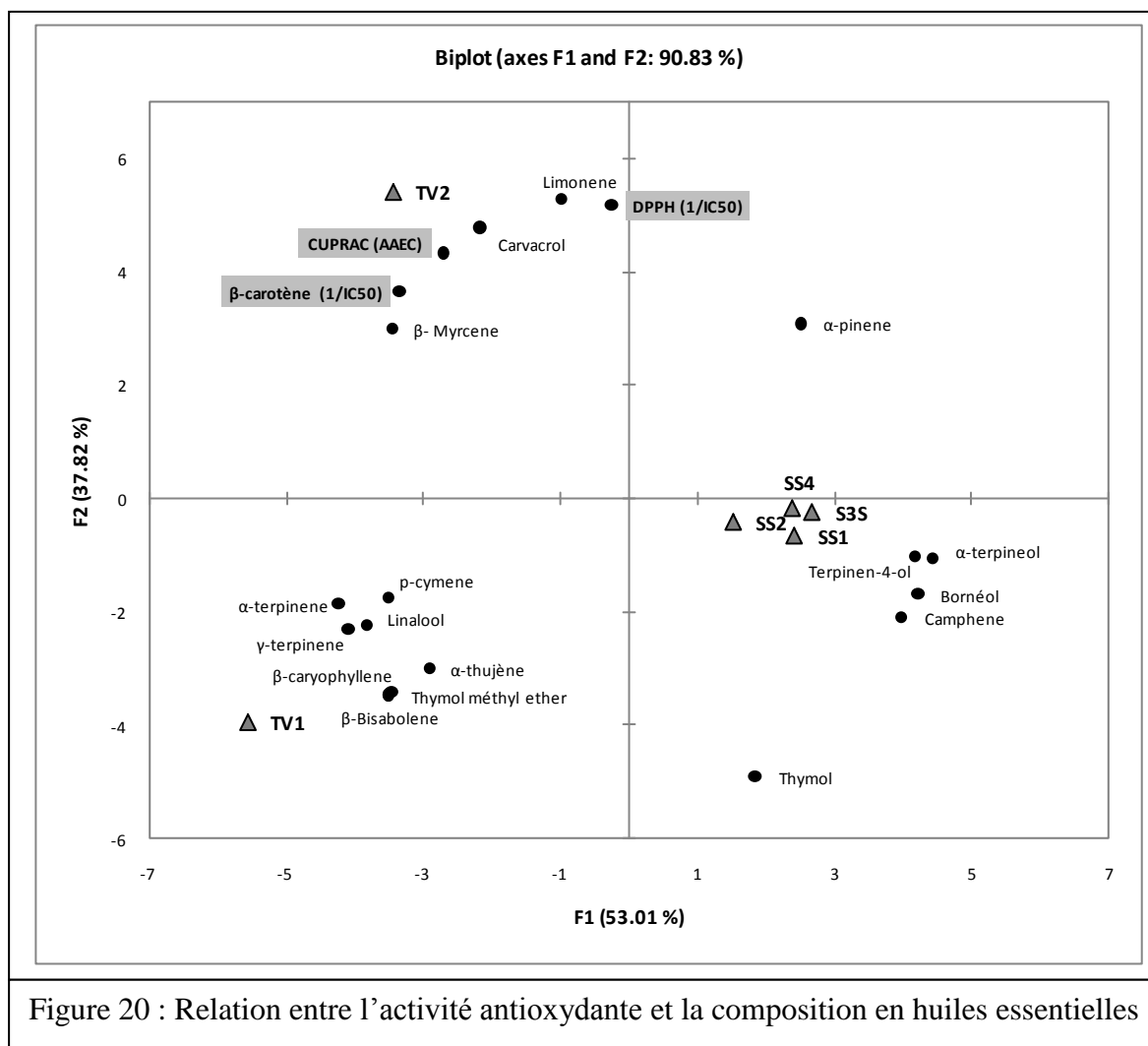


Figure 20 : Relation entre l'activité antioxydante et la composition en huiles essentielles

Les résultats montrent que le pouvoir antioxydant le plus élevé pour le test DPPH est fortement corrélé avec une forte teneur en limonène (malgré que ce dernier n'est présent qu'en petit pourcentage et ne dépassant pas 2,76% pour les échantillons étudiés dans ce cas). Pour le test  $\beta$ -carotène, il semble que la forte activité est reliée cette fois-ci au  $\beta$ - Myrcène (composé minoritaire ne dépassant pas 1,45%). Enfin, pour le test CUPRAC, l'activité est fortement corrélée dans ce cas avec une forte teneur de Carvacrol (62,55%). En fait, le pouvoir antioxydant des trois tests est corrélé avec de forte teneur en composé minoritaires  $\beta$ - Myrcène, Limonène, en plus du composant majoritaire Carvacrol ; ce qui constitue expérimentalement le cas de l'individu TV2.

## IV. 2. L'activité antioxydante des composés phénoliques

### IV. 2. 1. Le test du DPPH

Les IC<sub>50</sub> des différents extraits phénoliques ont été déterminés à partir des graphes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la variation en concentration de chaque extrait (voir annexes), les résultats sont mentionnés dans le tableau 15. En comparant ces valeurs avec celles des antioxydants de références testés, nous remarquons qu'elles sont supérieures ce qui signifie une activité antioxydante plus faible en général.

Pour l'espèce *Saccocalyx satureoides* des valeurs de IC<sub>50</sub> allant de 35,31 et 65,97 µg/ml ont été observées avec un maximum d'activité, traduit par les IC<sub>50</sub> les plus faibles, pour les extraits du système Acé/H<sub>2</sub>O et ceci pour les échantillons S2, S3 et S4. Alors que pour l'échantillon S1 c'était l'extrait issu du système MeOH/H<sub>2</sub>O qui a donné l'activité antioxydante la plus forte ; il en est de même pour l'échantillon T2 avec une IC<sub>50</sub> presque similaire à celle de l'α-tocophérol. En comparaison avec d'autres études précédentes, les extraits de *Saccocalyx satureoides* de la présente étude ont exprimés des activités antioxydantes plus fortes [IC<sub>50</sub> = 236 µg/ml pour l'extrait aqueux (Ziani *et al.* (2015))].

**Tableau 15 :** Les valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits phénoliques pour le test DPPH (µg extrait brut/ml)

		MeOH/H <sub>2</sub> O	Acé/H <sub>2</sub> O	MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx satureoides</i>	S1	56,87 ± 1,87	41,28 ± 2,75	40,10 ± 0,39
	S2	49,49 ± 1,03	39,97 ± 0,47	48,41 ± 0,45
	S3	47,21 ± 0,30	35,31 ± 0,41	52,56 ± 0,49
	S4	63,41 ± 1,04	59,16 ± 0,64	65,97 ± 1,31
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	35,92 ± 0,92	27,81 ± 0,36	32,18 ± 0,20
	T2	32,41 ± 0,11	28,17 ± 0,09	25,73 ± 0,32
<b>Standards (µg/ml)</b>				
L'α-tocophérol		24,39 ± 0,19		
L'acide ascorbique		10,39 ± 0,36		

Pour les extraits de *Thymus vulgaris* les valeurs des IC<sub>50</sub> ont été plus faibles, allant de 25,73µg/ml pour T2 (MeOH/Acé/H<sub>2</sub>O) à 35,92µg/ml pour T1 (MeOH/H<sub>2</sub>O). Ces valeurs indiquent une forte activité antiradicalaire qui pourrait être comparable à celle de l'α-tocophérol qui a montré une IC<sub>50</sub> égale à 24,39µg/ml.

**Martins et al.(2015)** ont déterminé pour un extrait hydroalcoolique (MeOH/H<sub>2</sub>O) de *Thymus vulgaris* (Espagne) une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à 279,2µg/ml. Pour la même espèce, **Dorman et al.(2003)** ont obtenu une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à 382,4µg/ml pour un échantillon de Finlande. Ces valeurs sont largement supérieures à nos résultats ce qui indique que nos extraits sont plus actifs avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> plus faibles.

**Khled khoudja et al.(2014)** ont déterminé des valeurs d' IC<sub>50</sub> de 191 – 115 et 179µg/ml pour trois espèces de *Lamiaceae* Algériennes (*Calamintha clinopodium*, *Teucrium flavum* et *Thymus algeriensis* respectivement).

D'autre part **Jabri-Karoui et al. (2012)** ont déterminé une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à 12 ± 0,06µg/ml pour un échantillon de *Thymus capitatus* (Tunisie) ; **Nickavar et Esbati (2012)** ont déterminé des IC<sub>50</sub> égales à 31,47, 47,22 et 48,68 µg/mL pour *Thymus pubescens*, *Thymus kotschyanus*, et *Thymus daenensis*, respectivement (Iran). Ces résultats sont comparables aux nôtres.

#### **IV. 2. 2. Le test d'ABTS<sup>+</sup>**

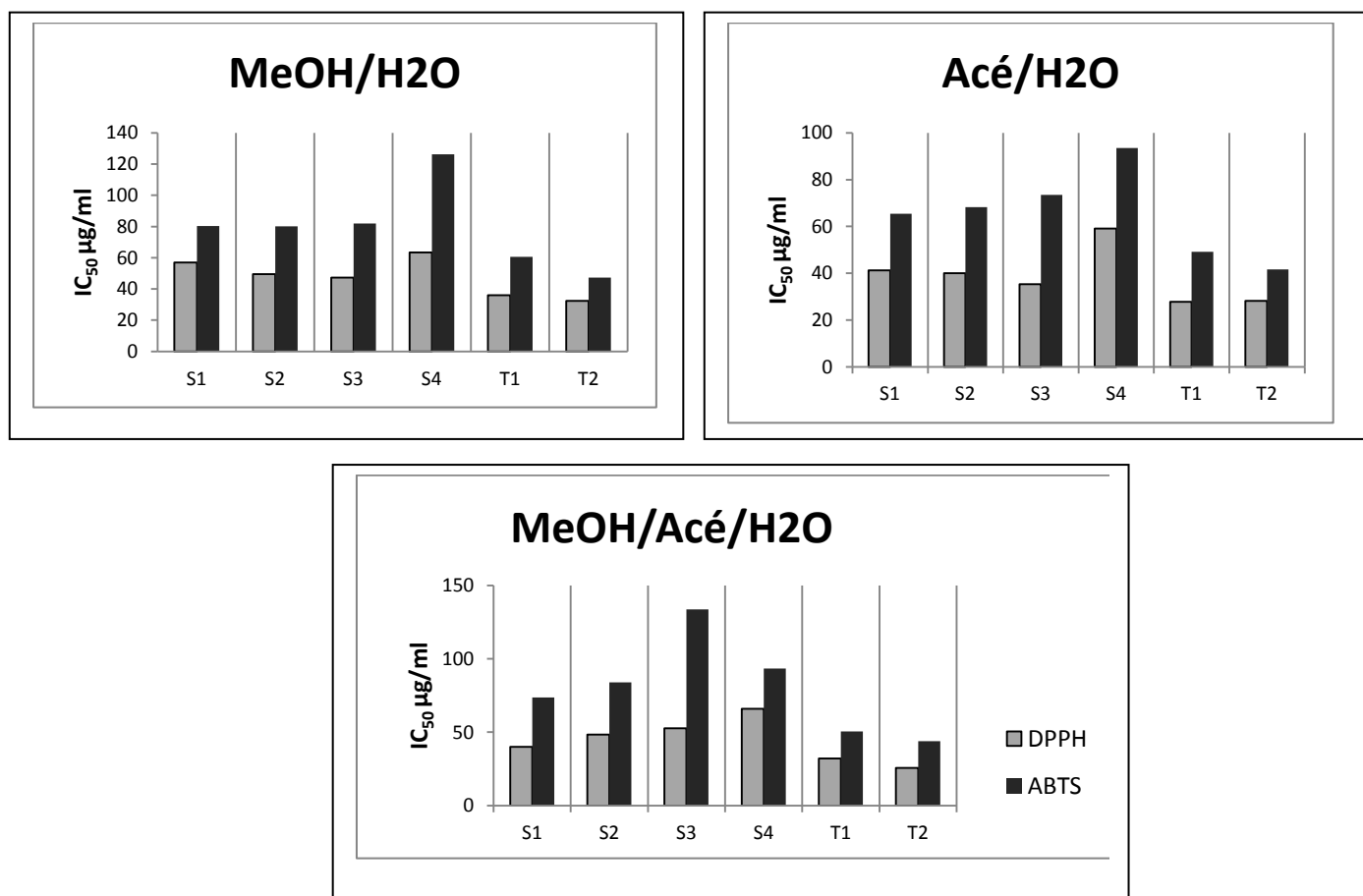
Le tableau 16 montre les valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits testés déterminés à partir des graphes représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la variation en concentration de chaque extrait (voir annexes). Ces valeurs varient entre 65,44 et 133,64µg/ml pour les extraits de *Saccocalyx satureoides*, et de 41,66 et 60,48µg/ml pour *Thymus vulgaris*, ces derniers ont montré l'activité antioxydante la plus élevée traduite par des valeurs d'IC<sub>50</sub> les plus faibles. Les trois extraits de l'échantillon T2 de l'espèce *Thymus vulgaris* ont révélé l'activité la plus forte. Les extraits issus du système Acé/H<sub>2</sub>O ont donné les valeurs d'IC<sub>50</sub> les plus faibles, donc ce sont les extraits possédant l'activité antioxydante la plus forte par rapport au total des extraits testés.

**Nickavar et Esbati (2012)** ont déterminé des IC<sub>50</sub> égales à 116,60, 180,40 et 210,90 µg/mL pour *Thymus pubescens*, *Thymus kotschyanus*, et *Thymus daenensis*, respectivement.

**Tableau 16 :** Les valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits phénoliques pour le test d'ABTS (µg extrait brut/ml)

		MeOH/H <sub>2</sub> O	Acé/H <sub>2</sub> O	MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx saturoides</i>	S1	80,31 ± 0,68	65,44 ± 0,24	73,58 ± 1,42
	S2	80,04 ± 0,64	68,20 ± 0,39	83,85 ± 0,48
	S3	81,96 ± 3,80	73,50 ± 1,08	133,64 ± 1,42
	S4	126,24 ± 3,01	93,53 ± 0,97	93,30 ± 1,59
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	60,48 ± 1,97	49,14 ± 0,88	50,55 ± 0,08
	T2	47,26 ± 0,32	41,66 ± 0,88	43,96 ± 0,39
<b>Standards (µg/ml)</b>				
L'α-tocophérol		43,63 ± 0,55		
L'acide ascorbique		19,86 ± 0,22		
BHT		23,59 ± 0,92		

La figure 21 renferme une comparaison entre les valeurs des IC<sub>50</sub> des tests DPPH et ABTS, d'après ces histogrammes il est bien clair que les différents extraits phénoliques ont donné des IC<sub>50</sub> plus élevées pour le test d'ABTS que celui du DPPH.



**Figure 21 :** comparaison entre les valeurs des IC<sub>50</sub> des tests DPPH et ABTS

Malgré que ces deux tests évaluent l'activité antioxydante en se basant sur la neutralisation d'un radical libre, en mesurant la capacité des molécules testées à donner des atomes d'hydrogène ou bien des électrons (**Christodouleas et al., 2015**), les valeurs des IC<sub>50</sub> sont nettement différentes. Ces différences peuvent être dues à la différence en structure des deux molécules des radicaux libres dans chaque test, ainsi que la présence d'autres molécules dans le milieu réactionnel pour le test d'ABTS (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et l'enzyme peroxydase). Ce dernier peut être aussi influé par le type de solvant utilisé (**Dawidowicz et Olszowy, 2013**).

Cette même remarque à été observée par **Wojdyło et al. (2007)** en testant les activités antioxydantes de 32 espèces appartenant à plusieurs familles de plantes, les auteurs ont trouvé une différence entre les valeurs de l'activité antioxydante mesurée par les deux tests DPPH et ABTS.

Le tableau 17 renferme les valeurs des coefficients de corrélation entre les valeurs des IC<sub>50</sub> des tests DPPH et ABTS et les teneurs des extraits en phénols totaux et en flavonoïdes.

<b>Tableau 17 : Corrélations entre les IC<sub>50</sub> et les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes</b>					
	DPPH/ABTS	DPPH/Ph.T	DPPH/Flv	ABTS/Ph.T	ABTS/Flv
Tous les extraits	0,84	-0,40	-0,51	-0,32	-0,43
S1	0,80	-0,99	-0,99	-0,75	-0,73
S2	0,94	-0,27	-0,90	0,06	-0,71
S3	0,82	-0,88	-0,95	-0,46	-0,60
S4	0,13	0,66	-0,86	-0,65	0,39
T1	0,90	-0,68	-0,88	-0,93	-0,58
T2	0,70	-0,36	0,21	-0,91	-0,55
<i>Saccocalyx satureoides</i>	0,64	-0,31	-0,45	-0,17	-0,31
<i>Thymus vulgaris</i>	0,82	0,14	0,22	0,33	0,46
Ph.T : Phénols totaux                      Flv : Flavonoïdes					

Quand tous les extraits sont traités comme un seul groupe une corrélation moyenne à été déterminée entre les résultats des tests DPPH et ABTS avec les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes. Il en est de même en regroupant les échantillons d'une même espèce. Par contre, lorsqu'on calcule les corrélations pour chaque échantillon séparément on constate qu'il y a une

bonne corrélation entre les IC<sub>50</sub> des tests DPPH et ABTS et les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes atteignant 0,9 pour quelques échantillons. D'autre part des bonnes corrélations ont été obtenues pour les deux tests avec des coefficients entre 0,6 et 0,9. Ces différences entre les valeurs des coefficients ont été aussi révélées par **Stagos *et al.* (2012)** traduites par des faibles coefficients de corrélation calculés pour le total des extraits, des coefficients moyens pour chaque genre, et une bonne corrélation entre les deux tests DPPH et ABTS. Alors que **Turumtay *et al.* (2014)** ont révélé une bonne corrélation entre les valeurs des IC<sub>50</sub> et les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes (-0,87 et -0,81 respectivement) pour *Thymus praecox* Opiz subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*.

#### **IV. 2. 3. Le test du molybdate-phosphate**

Le tableau 18 représente les valeurs d'AAEC (Ascorbic acid Antioxidant Equivalent Capacity) des différents extraits ainsi que celle de l' $\alpha$ -tocophérol calculées à l'aide des graphes représentant l'absorbance en fonction de la concentration (voir annexes).

Ce paramètre, est défini comme étant la concentration de la solution standard de la vitamine C possédant la capacité antioxydante équivalente à une solution de 1 mM de la substance étudiée (extrait). Plus la valeur de AAEC est importante, plus le pouvoir antioxydant des extraits est important (**Boussoussa, 2016**).

Le tableau 20 englobe les valeurs des AAEC des extraits ainsi que celle du standard  $\alpha$ -tocophérol qui a enregistré une valeur d'AAEC égale à 0,55 ce qui signifie une activité antioxydante équivalente à 1/2 de celle de l'acide ascorbique.

Les différents extraits nous ont donné des valeurs d'AAEC entre 0,2 et 0,3 ce qui est traduit par une capacité antioxydante presque similaire pour tout les extraits phénoliques testés, à l'exception des extraits de l'échantillon T1 qui ont montré des activités moins importantes.

**Tableau 18 :** Les valeurs d'AAEC des différents extraits phénoliques (test Molybdate-Phosphate).

		MeOH/H <sub>2</sub> O	Acé/H <sub>2</sub> O	MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx satureoides</i>	S1	0,27 ± 0,001	0,31 ± 0,002	0,34 ± 0,003
	S2	0,26 ± 0,004	0,32 ± 0,006	0,27 ± 0,01
	S3	0,32 ± 0,01	0,33 ± 0,006	0,29 ± 0,004
	S4	0,30 ± 0,001	0,31 ± 0,003	0,29 ± 0,01
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	0,20 ± 0,004	0,22 ± 0,005	0,18 ± 0,03
	T2	0,32 ± 0,005	0,35 ± 0,04	0,36 ± 0,004
<b>Standards</b>				
L'α-tocophérol		0,55 ± 0,01		

Le test de molybdate-phosphate mesure la capacité antioxydante d'un extrait par l'estimation du degré de réduction du Mo (VI) en Mo (V), Il donne une estimation directe de la capacité de réduction des antioxydants (Phatak et Hendre, 2014). Ce test implique un mécanisme de transfert d'électrons, de nombreux produits naturels y compris les phénols et les flavonoïdes, peuvent provoquer cette réduction (Ahmed *et al.*, 2015).

#### IV. 2. 4. Le test de réduction de cuivre (CUPRAC)

Le pouvoir réducteur de nos extraits a été estimé en utilisant le test de réduction de cuivre, les résultats sont regroupés dans le tableau 19. Le pouvoir réducteur a été calculé en équivalent d'acide ascorbique. Les différents extraits de *Saccocalyx satureoides* ont montré des activités moyennes avec des valeurs d'AAEC entre 0,27 et 0,52.

D'autre part, les extraits de *Thymus vulgaris* avaient des pouvoir réducteurs supérieures à celle de l'α-tocophérol et similaires à l'acide ascorbique et du BHT avec des valeurs d'AAEC allant de 0,83 à 1,21.

Nous pouvons conclure que nos extraits possèdent de bons pouvoirs réducteurs, ceci pourrait être expliqué par leur richesse en composés phénoliques donneurs d'électrons.



**Tableau 19** : Les valeurs d'AAEC des différents extraits phénoliques (test CUPRAC).

		MeOH/H <sub>2</sub> O	Acé/H <sub>2</sub> O	MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx satureoides</i>	S1	0,44 ± 0,004	0,46 ± 0,001	0,50 ± 0,005
	S2	0,52 ± 0,01	0,51 ± 0,002	0,44 ± 0,004
	S3	0,44 ± 0,005	0,50 ± 0,004	0,27 ± 0,01
	S4	0,38 ± 0,002	0,39 ± 0,002	0,45 ± 0,01
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	0,87 ± 0,01	0,79 ± 0,02	0,83 ± 0,01
	T2	0,87 ± 0,01	1,07 ± 0,006	1,21 ± 0,01
<b>Standards</b>				
BHT		1,13 ± 0,03		
L'α-tocophérol		0,66 ± 0,01		

Selon **Luminița (2015)**, la capacité antioxydante d'un extrait doit refléter la capacité des fractions lipophile et hydrophile, et au moins pour l'activité physiologique, elle doit refléter et différencier à la fois le transfert d'atomes d'hydrogène et le transfert d'électrons. Le chromophore néocuproïne-cuivre(I) est soluble à la fois dans l'eau et dans les milieux organiques, donc la méthode CUPRAC est capable de tester les antioxydants hydrophiles et lipophiles.

#### IV. 2. 5. Le test de FRAP

Le test FRAP semble être un test attrayant et potentiellement utile. Les réactifs sont peu coûteux, la procédure est rapide et directe, les résultats sont hautement reproductibles sur une large plage de concentration, et l'équipement requis est d'un type couramment utilisé dans les laboratoires de biochimie (**Benzie et Strain, 1996**). Cette méthode a été testée par **Szöllösi et Varga (2002)** sur des extraits de plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae*, ces auteurs ont conclu que le test de FRAP est approprié pour mesurer la capacité antioxydante des extraits de plantes médicinales.

Ce test mesure le pouvoir réducteur en milieu acide, les résultats sont exprimés en équivalent d'acide ascorbique. Les AAEC des différents extraits de l'espèce *Saccocalyx satureoides* varient entre 0,19 pour les trois extraits de l'échantillon S4 et 0,2 pour le reste des extraits. Tandis que pour les extraits de *Thymus vulgaris*, les AAEC ont été presque similaire à celle de l'α-tocophérol (tableau 20).

**Tableau 20** : Les valeurs d'AAEC des différents échantillons (test FRAP).

		MeOH/H <sub>2</sub> O	Acé/H <sub>2</sub> O	MeOH/Acé/H <sub>2</sub> O
<i>Saccocalyx saturooides</i>	S1	0,20 ± 0,003	0,21 ± 0,0006	0,19 ± 0,003
	S2	0,22 ± 0,002	0,21 ± 0,0005	0,20 ± 0,001
	S3	0,20 ± 0,002	0,21 ± 0,004	0,12 ± 0,002
	S4	0,19 ± 0,001	0,19 ± 0,002	0,19 ± 0,002
<i>Thymus vulgaris</i>	T1	0,32 ± 0,004	0,32 ± 0,003	0,29 ± 0,006
	T2	0,35 ± 0,003	0,37 ± 0,002	0,25 ± 0,002
<b>Standards</b>				
L'α-tocophérol		0,35 ± 0,004		
Trolox		0,67 ± 0,01		

**Rabeta et Nur Faraniza (2013)** annoncent que des valeurs élevées dans le test de FRAP sont traduit par des capacités antioxydantes élevées.

Les histogrammes de la figure 22 montrent une comparaison entre les valeurs des AAEC des tests CUPRAC, FRAP et Molybdate-phosphate. Nous pouvons constater que le test de CUPRAC a donné des valeurs d'AAEC les plus élevées que celles des tests FRAP et Molybdate-phosphate. Cette même remarque a été observée par **Sarikurku et al. (2015)** pour les extraits de *Phlomis armeniaca (Lamiaceae)*. Ces différences peuvent être dues aux différences des milieux réactionnels dans les tests, en effet les tests de FRAP et Molybdate-phosphate sont réalisés dans un milieu acide alors que celui du CUPRAC est dans un milieu à pH neutre qui est proche au pH physiologique. Dans des conditions plus acides que le pH physiologique, la capacité réductrice peut être réprimée en raison de la protonation sur les composés phénoliques, alors que dans des conditions plus basiques, la dissociation des composés phénoliques augmenterait la capacité de réduction d'un échantillon. Ainsi, le dosage CUPRAC fonctionnant à un pH proche de celui des fluides physiologiques donne une estimation réaliste des antioxydants dans un échantillon (**Apak et al., 2008**).

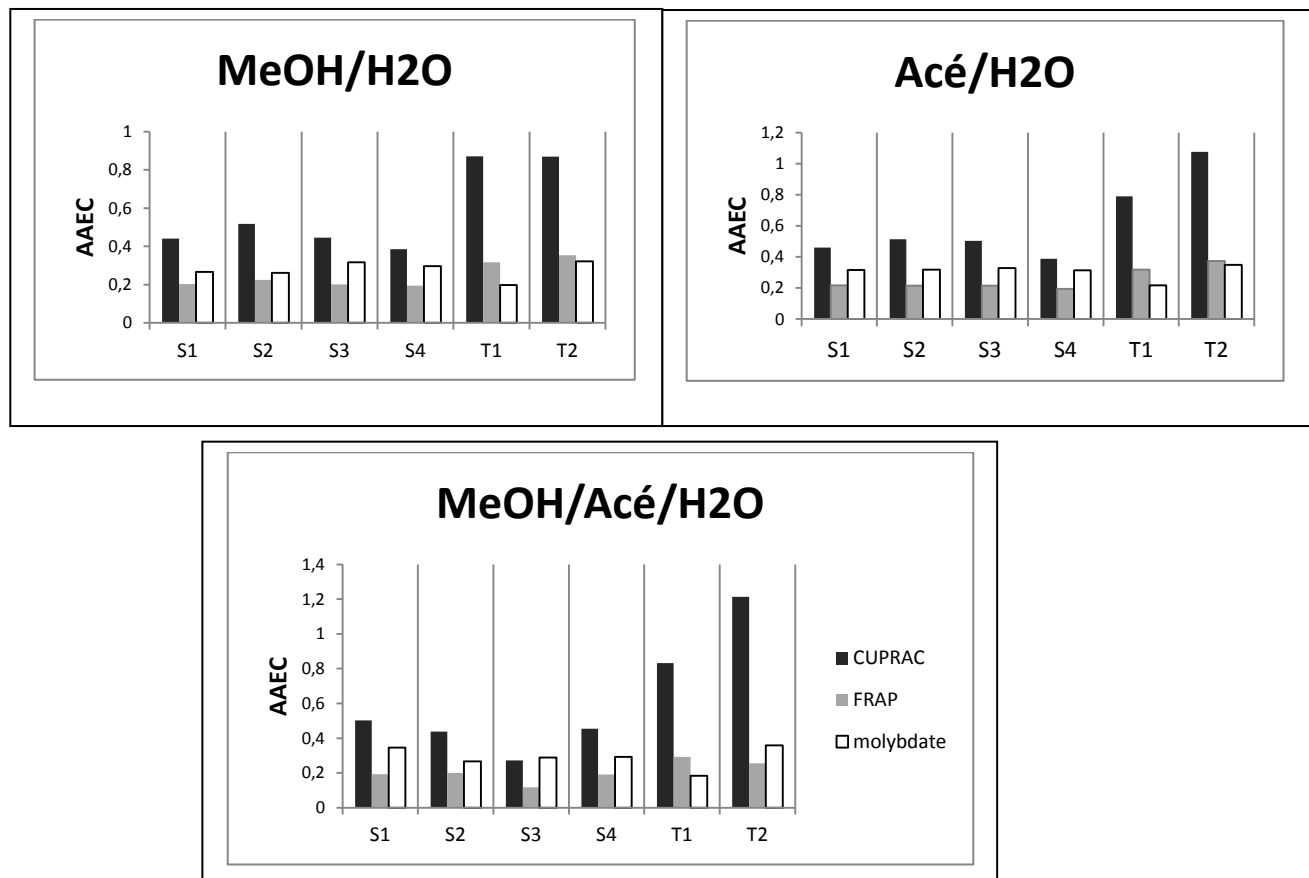


Figure 22 : Comparaison entre les valeurs des AAEC des tests CUPRAC, FRAP et Molybdate

Les tests CUPRAC, FRAP et Molybdate-phosphate suivent le même principe, qui est la réduction d'un ion métallique. Nous avons employé ces trois tests pour pouvoir comparer les résultats et obtenir une idée globale sur l'activité réductrice de nos extraits. Nous avons obtenu des valeurs d'AAEC similaires pour les deux tests FRAP et Molybdate-phosphate, alors que pour le test CUPRAC les valeurs ont été nettement élevées. Les échantillons de l'espèce *Saccocalyx satureoides* ont montré des activités dans les trois tests qui peuvent être classées selon l'ordre suivant  $AAEC_{FRAP} < AAEC_{Mo} < AAEC_{CUPRAC}$ , et ceci pour les trois systèmes de solvants. Tandis que pour les échantillons de *Thymus vulgaris* l'ordre était le suivant  $AAEC_{Mo} < AAEC_{FRAP} < AAEC_{CUPRAC}$ . En général, les extraits de *Thymus vulgaris* ont été plus actifs que ceux de *Saccocalyx satureoides*, avec des valeurs d'AAEC plus élevées. Cette activité pourrait être attribuée à leur composition.

L'ensemble des coefficients de corrélation entre les valeurs d'AAEC et les taux de phénols totaux et de flavonoïdes sont mentionnés dans le tableau 21. Pour tous les extraits des coefficients de corrélation positifs ont été calculés pour les tests CUPRAC et FRAP alors que pour le test de molybdate-phosphate les coefficients ont été négatifs. D'une façon générale, la corrélation était faible, traduite par des coefficients ne dépassant pas une valeur de 0,5.

<b>Tableau 21</b> : Corrélations entre les AAEC et les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes						
	CUPRAC/Ph.T	CUPRAC/Flv	FRAP/Ph.T	FRAP/Flv	Mo-P/Ph.T	Mo-P/Flv
Tous les extraits	0,24	0,33	0,31	0,51	-0,42	-0,50
S1	0,82	0,83	-0,12	-0,15	0,97	0,97
S2	-0,81	-0,09	-0,97	-0,48	0,24	0,88
S3	0,55	0,68	0,45	0,60	0,61	0,73
S4	0,99	-0,99	-0,99	0,93	-0,54	0,77
T1	-0,68	-0,87	-0,70	0,51	-0,17	0,91
T2	0,32	-0,25	0,44	0,86	0,45	-0,11
<i>Saccocalyx satureoides</i>	0,12	0,35	-0,01	0,31	0,41	0,29
<i>Thymus vulgaris</i>	-0,55	-0,74	-0,07	0,13	-0,79	-0,80
	Ph.T : Phénols totaux		Flv : Flavonoïdes			

Quand les corrélations sont calculées pour chaque espèce, les valeurs ont été faibles pour *Saccocalyx satureoides* alors que pour *Thymus vulgaris* les corrélations étaient moyennes pour le test CUPRAC (-0,55 et -0,74), faibles pour le test FRAP (-0,07 et 0,13) et relativement élevée pour le test molybdate-phosphate (-0,79 et 0,80).

Alors qu'en traitant les espèces séparément, de bonnes corrélations ont été trouvées généralement avec des valeurs de coefficient de corrélation proche de 1 (ou -1), et ceci pour les échantillons S1, S2, S3 et S4. Tandis que pour T1 et T2 les coefficients ont été moyens à faibles sauf quelques exceptions (pour T1 : corrélations entre taux de flavonoïdes et les tests CUPRAC et molybdate-phosphate).

# *Conclusion et perspectives*

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les plantes ont toujours constituées un réservoir de nouvelles molécules et métabolites qui peuvent être utilisées comme agents antioxydants et/ou antimicrobiens. L'intérêt porté pour l'extraction et l'étude des activités des extraits de plantes a gagné une importance primordiale durant les dernières décennies, et ceci dans le but de trouver des alternatives aux antioxydants synthétiques ainsi qu'aux antibiotiques.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence la composition chimique ainsi que les activités antioxydantes des huiles essentielles et des composés phénoliques extraits de deux espèces de plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae* : *Saccocalyx satureioides* (quatre échantillons), *Thymus vulgaris* (deux échantillons).

Les huiles essentielles des espèces de plantes étudiées ont été caractérisées par les composés majoritaires suivant : l' $\alpha$ -terpinéol, le thymol et le bornéol chez *Saccocalyx satureioides* ; le  $\gamma$ -terpinène, le p-cymène, le thymol et le carvacrol chez *Thymus vulgaris*. Les huiles essentielles de *Saccocalyx satureioides* ont montré des pourcentages élevés en monoterpènes oxygénés (70%), alors que celles de *Thymus vulgaris* ont renfermé des pourcentages inférieurs (41,65 et 66,39%). Pour les hydrocarbures monoterpéniques, les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* ont été caractérisées par des pourcentages élevés (50,42 et 28,44%) par rapport à celles de *Saccocalyx satureioides* (de 17 à 22%).

L'analyse par HPLC des extraits phénolique nous a permis d'identifier 12 composés pour *S. satureioides* avec la présence notable de l'acide rosmarinique, alors que pour les extraits de *T. vulgaris*, nous avons 7 composés ont été identifiés avec la présence remarquable d'eriodictyol-O-hexoside au niveau de l'échantillon T1, tandis que l'échantillon T2 était caractérisé par la présence d'acide rosmarinique.

L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits phénoliques montre que les différents extraits possèdent des activités réductrices et anti-radicalaires intéressantes, avec une activité remarquable pour les extraits phénoliques par rapport aux huiles essentielles.

Les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* ont montré l'activité antioxydante la plus importante et ceci pour tous les tests réalisés, avec l'activité la plus forte pour l'huile essentielle de l'échantillon T2.

Concernant les extraits phénoliques, les extraits de l'espèce *Thymus vulgaris* ont été plus actifs avec des IC50 plus faibles pour les tests DPPH et ABTS, et des valeurs d'AAEC élevées pour le test de CUPRAC. Alors que pour les deux tests FRAP et Molybdate-phosphate les valeurs d'AAEC ont été proches pour tous les extraits.

Sur la lumière des résultats obtenus, nous pouvons constater que les extraits étudiés sont doués des activités antioxydantes intéressantes, ces propriétés sont directement liées à la composition chimique des extraits et peuvent leur donner la capacité d'être utilisées comme additifs alimentaires jouant le rôle d'agents antioxydants pour la préservation des aliments.

Rappelant que les objectifs fixés dès le départ étaient l'étude de la composition chimique et des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits phénoliques des espèces choisies. Nous avons déterminé la composition chimique des huiles essentielles et des extraits phénoliques et leurs activités antioxydantes, par contre nous n'avons pas abordé l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits pour éviter la répétition des études déjà entreprises d'une part, et l'apparition de quelques travaux réalisés sur les huiles essentielles de *Saccocalyx satureoides* qui montrent une faible activité et par conséquent nous ne voyons pas un intérêt scientifique pour l'étude de ce type d'activité biologique.

Quelques perspectives générales peuvent être tirées à l'issue des résultats obtenus dans ce travail :

- Identifier la composition quantitative des différents extraits phénoliques.
- Identifier et caractériser les composés responsables des activités antioxydantes ainsi que leurs modes d'actions.
- Les données accumulées à partir de cette étude sont des résultats de tests effectués *in vitro*, ce qui nécessite d'autres tests afin de confirmer ou infirmer ces résultats et passer aux applications pharmaceutiques, agroalimentaires.
- Evaluer les extraits des huiles essentielles et phénoliques pour d'autres activités biologiques à savoir : anti-inflammatoire, anti-virale, ainsi que leur effet sur d'autres enzymes.

# *Références bibliographique*



- Ahmed D., Khan M. M., Saeed R., 2015, Comparative analysis of phenolics, flavonoids, and antioxidant and antibacterial potential of methanolic, hexanic and aqueous extracts from *Adiantum caudatum* leaves, *Antioxidants*, 4(2) : 394-409.
- Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M., Chaouch A., 2010, Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut et *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. du Maroc, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14 (1) : 141-148.
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Bektas, oğlu B., Bener M., 2008, Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity Assay for Food Antioxidants : Vitamins, Polyphenolics, and Flavonoids in Food Extracts, pages 163-193 *In* : Armstrong D. (eds) *Advanced Protocols in Oxidative Stress I. Methods In Molecular Biology*, vol 477. Humana Press
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Esin Çelik S., 2008, Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay, *Microchim Acta*, 160: 413–419.
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S.E., 2004, Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, *J. Agric. Food Chem.* 52 : 7970-7981.
- Baba Aissa F., 1999, *Encyclopédie des plantes utiles Flore d’Algérie et du Maghreb - édition librairie moderne Rouïba*, 368 pp.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008, Biological effects of essential oils – A review, *Food and chemical toxicology*, 46 : 446-475.
- Baydar H., Sagdiç O., Özken G., Karadogan T., 2004, Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey, *Food control* 15 : 169-172.
- Bayir H., 2005, Reactive oxygen species, *Crit Care Med.*: 33(12 Suppl) : S498-501.
- Behnia M., Haghighi A., Komeylizadeh H., Seyyed Tabaei S. J, Alireza Abadi A., 2008, Inhibitory Effects of Iranian *Thymus vulgaris* Extracts on in Vitro Growth of *Entamoeba histolytica*, *Korean J Parasitol.* 46 (3) : 153-156.
- Benabed K.H., 2011, Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des *Lamiaceae*, mémoire de Magister, Université Amar Téliidji-Laghouat.

- Benbelaïd F., Khadir A., Abdoune M. A., Bendahou M., 2013, Phytochemical screening and *in vitro* antimicrobial activity of *Thymus lanceolatus* Desf. from Algeria, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(6): 454-459.
- Benzie I. F. F., Strain J. J., 1996, The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay, *Analytical Biochemistry* **239** :70–76.
- Berdowska I., Zieliński B., Fecka I., Kulbacka J., Saczko J., Gamian A., 2013, Cytotoxic impact of phenolics from *Lamiaceae* species on human breast cancer cells, *Food Chemistry* 141 : 1313-1321.
- Biondi D. M., Sari M., Abdel Ghani Z., Ruberto G., 2006, Essential oil of Algerian *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Durieu, *Flavor and fragrance journal*, 21 : 546-548.
- Boussoussa H., 2016, Étude phytochimique et activités biochimiques des extraits phénoliques de l'espèce *Rhanterium adpressum*, Thèse de Doctorat, L'École Normale Supérieure de Kouba-Alger, 185p.
- Bowles E. J., 2003, *The chemistry of aromatherapeutic oils*, 3ème édition, Allen & Unwin, Australie, 236p.
- Briskin D. P., 2000, Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant physiology*, 124 : 507-514.
- Byiug P. Y., 1994, cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiological reviews*, 71 (1) : 139-162.
- Cao L., Young Si J., Liu Y., Sun H., Jin W., Li Z., Zhao X. H., Le Pan R., 2009, Essential oil composition antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim, *Food chemistry* 115 : 801-805.
- Catarino M. D., Silva A.M.S., Saraiva S.C., Sobral A.J., Cardoso, S.M., 2015,. Characterization of phenolic constituents and evaluation of antioxidant properties of leaves and stems of *Eriocephalus africanus*. *Arabian Journal of Chemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.04.018>.
- Chen I, Chang H, Yang H & Chen G. 2004. Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs: a fast approach with ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*; 29-33.
- Christodouleas D. C., Fotakis C., Nikokavoura A., Papadopoulos K., Calokerinos A. C., 2015, Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant profile of untreated oils. *Food Analytical Methods*, 8 (5) : 1294-1302.
- Clarke S., 2008, *Essential chemistry for aromatherapy*, 2ème édition, Elsevier, 320p.

- Cosentino S., Tuberoso C. I. G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F., 1999, *In vitro* antimicrobial and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils, Letters in applied microbiology 29 : 130-135.
- Cowan M. M., 1999, Plant products as antimicrobial agents, Clinical microbiology reviews, 12 (4) : 564-582.
- Crozier A., Jaganath I.B., Clifford M.N., Phenols, polyphenols and tannins : an overview pages 1-21 *in* Plant secondary metabolites occurrence, structure and role in the human diet, Crozier A., Clifford M.N., Ashihara H., 2006, Blackwell publishing.
- Dawidowicz A.L., Olszowy M., 2013, The importance of solvent type in estimating antioxidant properties of phenolic compounds by ABTS assay, Eur Food Res Technol, 236 : 1099–1105.
- de Melo J.O., Bitencourt T.A., Fachin A.L., Oliveira Cruza E.M., Ramos de Jesus H.C, Alves P.B., Arrigoni-Blanka M.d.F., de Castro Franca S., Belebony R.O., Fernandes R.P.M., Fitzgerald Blanka A., Schere R., 2013, Antidermatophytic and antileishmanial activities of essential oils from *Lippia gracilis* Schauer genotypes, Acta Tropica 128 : 110–115.
- Delgado T., Marinero P., Asensio-S.-Manzanera M.C., Asensio C., Herrero B., J.A. Pereira, Ramalhosa E., 2014, Antioxidant activity of twenty wild Spanish *Thymus mastichina* L. populations and its relation with their chemical composition, Food Science and Technology 57 : 412-418.
- Dewick P. M., 2009, Medicinal natural products: a biosynthetic approach, 3<sup>ème</sup> édition, John Wiley and sons, Angleterre, 539p
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P and Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Food chemistry*, 654-660.
- Dorman H.J.D., Peltoketo A., Hiltunen R., Tikkanen M.J., 2003, Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs, Food Chemistry 83 : 255–262.
- Dubey N. K., 2015, Plants as a Source of Natural Antioxidants, CAPI, Royaume uni, 307 pages.
- Embuscado M. E., 2015, Spices and herbs: natural sources of antioxidants—a mini review, Journal of Functional Foods (18) : 811-819.
- Evans W. C., 2008, Trease & Evans pharmacognosy, Ed. W. B. Saunders. États unis, 585p.

- Falcão S.I., Vale N., Gomes P., Domingues, M.R.M., Freire C., Cardoso S.M., Vilas-Boas M., 2013, Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC–MS spectrometry: uncommon propolis rich in flavonoid glycosides, *Phytochemical Analysis*, 24(4) : 309-318.
- Fayed S.A., 2015, Chemical Composition, Antioxidant, Anticancer Properties and Toxicity Evaluation of Leaf Essential Oil of *Cupressus sempervirens*, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 43(2) : 320-32.
- Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., Salgueiro L., Miguel M. G., Faleiro M. L., 2008, Portuguese *Thymbra* and *Thymus* Species Volatiles: Chemical Composition and Biological Activities, *Current Pharmaceutical Design* 14 : 3120-3140.
- Franz C., Novak J., 2010, Sources of essential oils *in* Handbook of essential oils science, technology and applications, pages 39-73, Başer K. H. C. et Buchbauer G., CRC Press. États unis.
- Ghasemi Pirbalouti A., Hashemi M., Taherian Ghahfarokhi F., 2013, Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L., *Industrial Crops and Products* 48 : 43– 48
- Gupta S.D., 2011, Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants, CRC press, Royaume uni, 362p.
- Gurib-Fakim A., 2006, Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow, *Molecular aspects of medicine*, 27 : 1-93.
- Han J., Ye M., Qiao X., Xu M., Wang B. R., Guo D. A., 2008, Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 47(3) : 516-525.
- Haraguchi H., 2001, Antioxidative plant constituents *in* Bioactive compounds from natural sources isolation characterization and biological properties, Tringali C., Taylor and Francis, London, pp 339-377.
- Hossain M., Rai D., Brunton N., Martin-Diana A.B., Barry-Ryan C., 2010, Characterization of phenolics composition in *Lamiaceae* Species by LC-ESI-MS/MS, *J.Agric.Food Chem.*, 58 (19) : 10576-10581.
- Hosseini Behbahani M., Ghasemi Y, Khoshnoud M.J., Faridi P., Moradli G., Najafabady N.M., 2013, Volatile oil composition and antimicrobial activity of two *Thymus* species, *Pharmacognosy Journal* 5 : 77-79.

- Hussain A. I., Anwar F., Nigam P. S, Sarker S. D., Moore J. E., Rao J. R., Mazumdar A., 2011, Antibacterial activity of some *Lamiaceae* essential oils using resazurin as an indicator of cell growth, *Food Science and Technology* 44 : 1199-1206.
- Imelouane B., Ahmadi H., Wathelet J. P., Ankit M., Khedid K., El Bachiri A., 2009, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Thyme (*Thymus vulgaris*) from western Morocco, *International journal of agriculture and biology*, 11 : 205-208.
- İnan M., Kirpik M., Kaya D. A., Kirici S., 2011, Effect of Harvest Time on Essential Oil Composition of *Thymbra spicata* L. Growing in Flora of Adıyaman, *Advances in Environmental Biology*, 5(2) : 356-358.
- Jabri-Karoui I., Bettaieb I., Msaada K., Hammami M, Marzouk B., 2012, Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*, *Journal of functional foods* 4 : 661 –669.
- Jordán M. J., Martínez R. M., Goodner K. L., Baldwin E. A, Sotomayor J. A., 2006, Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition, *Industrial Crops and Products* 24 : 253–263.
- Keefover-Ring K., Thompson J. D., Linhart Y. B., 2009, Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction, *Flavour and Fragrance Journal*, 24 : 117-122.
- Khled khoudja N., Boulekbache-Makhlouf L., Madani K., 2014, Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian *Lamiaceae*, *Industrial Crops and Products* 52 : 177– 182.
- Krumova K., Cosa G., 2016, Overview of Reactive Oxygen Species in Singlet Oxygen Applications in Biosciences and Nanosciences, Nonell S., Flors C., The Royal Society of Chemistry, Royaume uni, pp 3-21.
- Kulisik T., Radonic A., Katalinic V., Milos M., 2004, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, *Food chemistry* 85 : 633-640.
- Kutchan T.M., Gershenzon J., Møller B.L., Gang D.R., 2015, Natural products, in Buchanan B.B., Grisse W., Jones R.L., *Biochemistry & molecular biology of plants*, John Wiley & Sons, UK.
- Laguerre M., López-Giraldo L. J., Lecomte J., Pina M., Villeneuve P., 2007, Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante, *journal OCL* vol. 14 N° 5 : 278-292.
- Loizzo M.R., Menichini F., Conforti F., Tundis R., Bonesi M., Saab A.M., Statti G.A., de Cindio B., Houghton P.J., Menichini F., Frega N.G., 2009, Chemical analysis, antioxidant,

- antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils, Food Chemistry 117 : 174-180.
- Ložienė K., Venskutonis P.R., Šipailienė A., Labokas J., 2007, Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes, Food Chemistry 103 : 546-559.
  - Luminița P., 2015, Comparative evaluation of antioxidant capacity of herbal plants by different methods, JOURNAL of Horticulture, Forestry and Biotechnology, 19 (4) : 9- 12.
  - Macheix J-J, Fleuriet A et Allemand C J. 2005. Les composés phénoliques des végétaux « un exemple de métabolites secondaires d'importance économique ». *Ed ; Presse polytechniques et universitaires romandes*; 192.
  - Machlin L.j., Bendich A., 1987, Free radical tissue damage : protective role of antioxidant nutrients, The FASEB Journal vol. 1 no. 6 441-445.
  - Marco G.J., 1968, A Rapid Method for Evaluation of Antioxidants, Journal of the American Oil Chemists' Society, 45 (9) : 594-598.
  - Martins N., Barros L., Santos-Buelga C., Silva S., Henriques M., Ferreira I.C.F.R., 2015, Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme : Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterization, Food Chemistry 167 : 131-137.
  - Mena P., Calani L., Dall'Asta C., Galaverna G., García-Viguera C., Bruni R., Crozier A., Del Rio D., 2012, Rapid and comprehensive evaluation of (poly) phenolic compounds in pomegranate (*Punica granatum* L.) juice by UHPLC-MS<sup>n</sup>, Molecules, 17(12) : 14821-14840.
  - Miller H.E., 1971, A Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants, Journal of the American Oil Chemists' Society, 48 (2) : 91-91.
  - Molyneux P., 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity ; Songklanakarin J. Sci. Technol., 26 (2) : 211-219.
  - Muselli A., Desjobert J. M., Paolini J., Bernardini A. F., Costa J., Bendahou M., Benyoucef M., 2008, Antimicrobial activity and chemical composition of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. Essential oil and extract obtained by microwave extraction, Comparison with hydrodistillation, Journal of essential oil research 20 (2) : 174-178.
  - Nabavi S.M., Marchese A., Izadi M., Curti V., Daglia M., Nabavi S.F., 2015, Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: From farm to pharmacy, Food Chemistry 173 : 339-347.

- Nickavar B., Esbati N., 2012, Evaluation of the Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Three *Thymus* Species, *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 5 : 119-125.
- Nikolić M., Glamočlija J., Ferreira I.C.F.R, Calhelha R.C., Fernandes Â., Marković T., Marković D., Giwelie A., Soković M., 2014, Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils, *Industrial Crops and Products* 52 : 183– 190.
- Ozenda P., 1977, *Flore du sahara*, Editions du centre national de la recherche scientifique, Paris-France.
- Pengelly A., 2004, *The constituents of medicinal plants an introduction to the chemistry and therapeutic of herbal medicines*, Ed. Allen et Unwin, Australie, 172 p.
- Pereira O.R., Dominigues M.R.M., Silva A.M.S., Cardoso S.M., 2012, Phenolic constituents of *Lamium album* : focus on isoscutellarein derivatives, *Food research international*, 48 : 330-335.
- Pereira O.R., Peres A.M., Silva A.M.S., Dominigues M.R.M., Cardoso S.M., 2013, Simultaneous characterization and quantification of phenolic compounds in *Thymus x citriodorus* using a validated HPLC-UV and ESI-MS method, *Food research international*, 54 : 1773-1780.
- Petersen M., Simmonds M.S.J., 2003, Rosmarinic acid, *Phytochemistry* 62 : 121–125.
- Phatak R. S., Hendre A. S., 2014, Total antioxidant capacity (TAC) of fresh leaves of *Kalanchoe pinnata*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (5) : 32-35.
- Pinto E., Pina-vaz C., Salgueiro L., Gonçalves M. J., Costa-de-Oliveira S., Cavaleiro C., Palmeira A., Rodrigues A., Martinez-de-Oliveira J., 2006, Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species, *Journal of Medical Microbiology* 55 : 1367–1373.
- Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999, Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex : specific application to the determination of vitamin E, *Analytical Biochemistry* 269 : 337-341.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K., 2005, Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 : 4290-4302.
- Proestos C., Chorianopoulos N., Nychas G.-J. E., Komaitis M., 2005, RP-HPLC Analysis of the Phenolic Compounds of Plant Extracts. Investigation of Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1190-1195.

- Proestos C., Lytoudi K., Mavromelanidou O. K., Zoumpoulakis P., Sinanoglou V. J., 2013, Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils, *Antioxidants*, 2 (1) :11-22.
- Quezel P., Santa S., 1963, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Editions du centre national de la recherche scientifique, Paris-France.
- Rabeta, M.S., Nur Faraniza, R., 2013, Total phenolic content and ferric reducing antioxidant power of the leaves and fruits of *Garcinia atrovirdis* and *Cynometra cauliflora*, *International Food Research Journal* 20(4): 1691-1696.
- Roby M.H.H., Sarhan M.A., Selim K.A., Khalel K.I., 2013, Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts, *Industrial Crops and Products* 43 : 827– 831.
- Safaei-Ghomi J., Ebrahimabadi A.H., Djafari-Bidgoli Z., Batooli H., 2009, GC/MS analysis and *in vitro* antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol, *Food chemistry*, 115 : 1524-1528.
- Salim A. A., Chin Y.-W., Knighorn A. D., 2008, Drug discovery from plants, pages 1-2 in *Bioactive molecules and medicinal plants*, Ramawat K. G., et Mérillon J. M., Springer, Berlin.
- Sandberg F., Corrigan D., 2004, *Natural remedies – their origins and uses*, Taylor & Francis, London-New York, 169p.
- Sarikurkcu C., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Harmandar M., 2008, Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *Globosum* (*Lamiaceae*) by three different chemical assays, *Bioresource Technology* 99 : 4239-4246.
- Sarikurkcu C., Uren M.C., Tepe B., Cengiz M., Kocakb M.S., 2015, *Phlomis armeniaca*: Phenolic compounds, enzyme inhibitory and antioxidant activities, *Industrial Crops and Products* 78 : 95–101.
- Sarma J.C., 2011, Naturally occurring polyphenols and their utility, pages 19-29, in *Chemistry of Phenolic Compounds: State of the Art*, Baruah J.B., Nova Science Publishers, Inc., New York.
- Sell C., 2010, chemistry of essential oils, pages 121-150 in *Handbook of essential oils science, technology and applications*, Başer K. H. C. et Buchbauer G., CRC Press. États unis.



- Sellami I. H., Maamouri E., Chahed T., Wannas W. A., Kchouk M. E., Marzouk B., 2009, Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.), *Industrial Crops and Products* 30 : 395–402.
- Sharma O. P., Baht T. K., 2009, DPPH antioxidant assay revisited, *Food chemistry* 113 : 1202-1205.
- Shibamoto T, 2014, Measuring the Antioxidant Activity of Food Components *in* Bartosz G., *Food Oxidants and Antioxidants Chemical, Biological, and Functional Properties*, CRC Press, Etats unis, 550 pages.
- Silvia Taga M., Miller E.E., Pratt D.E., 1984, Chia Seeds as a Source of Natural Lipid Antioxidants, *JAOCs*, vol. 61, no. 5 : 928-931.
- Simon H.-U., Haj-Yehia A., Levi-Schaffer F., 2000, Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction, *Apoptosis*; 5: 415–418.
- Small E., Catling P. M., 2000, *Les cultures médicinales canadiennes*, Conseil national de recherches, Canada, 281pp.
- Stagos D., Portesis N., Spanou C., Mossialos D., Aligiannis N., Chaita E., Panagoulis C., Reri E., Skaltsounis L., Tsatsakis A. M., Kouretas D., 2012, Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species, *Food and Chemical Toxicology* 50 : 4115-4124.
- Szöllösi R., Varga I. S., 2002, Total antioxidant power in some species of *Labiatae* (Adaptation of FRAP method). *Acta Biologica Szegediensis*, 46 (3-4), 125-127.
- Telci I., Demirtas I., Bayram E., Arabaci O., Kacar O., 2010, Environmental variation on aroma components of pulegone/piperitone rich spearmint (*Mentha spicata* L.), *Industrial Crops and Products* 32 : 588–592.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat H. A., Daferera D., Polissiou, Sokmen A., 2005, Antioxydative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subs. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subs. *sipyleus* var. *rosulans*, *Journal of food engineering* 66 : 447-454.
- Thompson J. D., Chalchat J. C., Michet A., Linhart Y. B., Ehlers B., 2003, Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes, *Journal of Chemical Ecology* 29 (4) : 859-880.
- Trivellini A., Lucchesini M., Maggini R., Mosadegh H, Villamarin T.S.S., Vernieri P., Mensuali-Sodi A., Pardossi A., 2016, *Lamiaceae* phenols as multifaceted compounds:

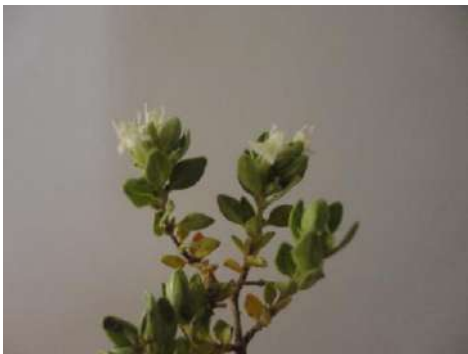
- bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”, *Industrial Crops and Products* 83 : 241–254.
- Turumtay E.A., Islamoğlu F., Çavuş D., Şahin H., Turumtay H., Vanholme B., 2014, Correlation between phenolic compounds and antioxidant activity of Anzer tea (*Thymus praecox* Opiz subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*), *Industrial Crops and Products* 52 : 687–694.
  - Vermerris W., et Nicholson R., 2006, *Phenolic compound biochemistry*, Springer, Netherlands, 276p.
  - Verpoorte R., Alfermann A. W., 2000, *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*, Kluwer Academic Publishers, Pays-Bas, 293p.
  - Wojdyło A., Oszmiański J., Czemerys R., 2007, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chemistry* 105 : 940–949.
  - Ye M., Yang W., Liu K., Qiao X., Li B., Cheng J., Feng J., Guo D., Zhao Y., 2012, Characterization of flavonoids in *Millettia nitida* var. *hirsutissima* by HPLC/DAD/ESI-MS<sup>n</sup>, *Journal of pharmaceutical analysis*, 2 (1) : 35-42.
  - Zerooug M. M., Laouer H., Strange R. N., Nicklin J., 2011, The effect of essential oil of *Saccocalyx satureioides* Coss. Et Dur. On the growth and production of solanapyrone a by *Ascochyta Rabiei* (Pass.) Labr., *Advances in environmental biology* 5 (2) : 501-506.
  - Zheng W., Wang S.Y., 2001, Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs, *J. Agric. Food Chem.*, 49 : 5165–5170.
  - Ziani B.E.C., Barros L., Boumehira A.Z, Bachari K., Heleno S.A., Alves M.J., Ferreira I.C.F.R., 2018, Profiling polyphenols composition by HPLC-DAD-ESI/MS<sup>n</sup> and antibacterial activity of infusion preparations obtained from four medicinal plants, *Food Funct.* ,9 (1) : 149-159.
  - Ziani B.E.C., Calhelha R.C., Barreira J.C.M., Barros L., Hazzit M., Ferreira I.C.F.R., 2015, Bioactive properties of medicinal plants from the Algerian flora : Selecting the species with the highest potential in view of application purposes, *Industrial Crops and Products* 77 : 582–589.

# *Annexes*

**Annexe I : Photos des espèces de plantes étudiées (Prises par Benabed)**









*Saccocalyx satureioides*

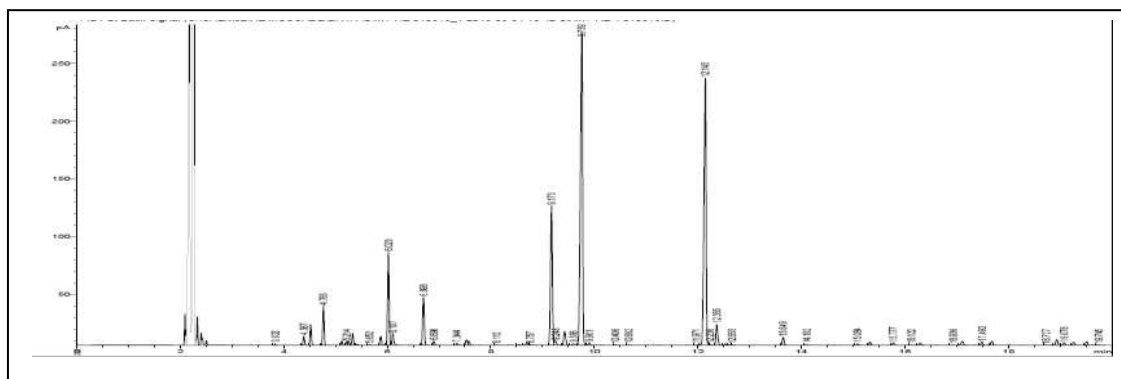
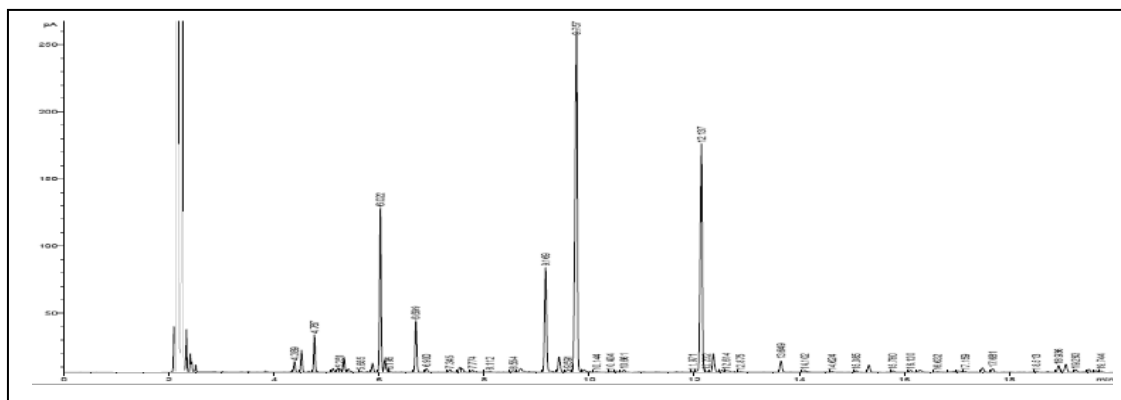
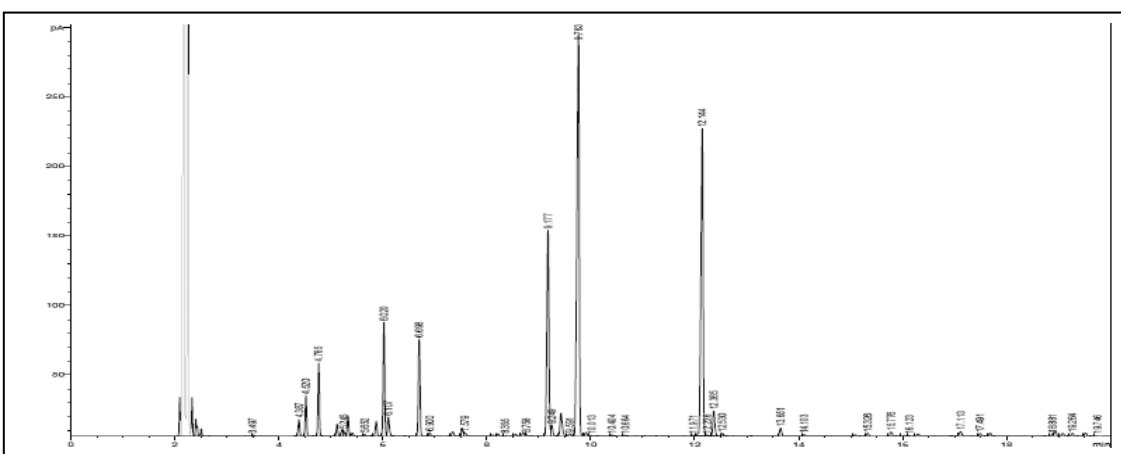


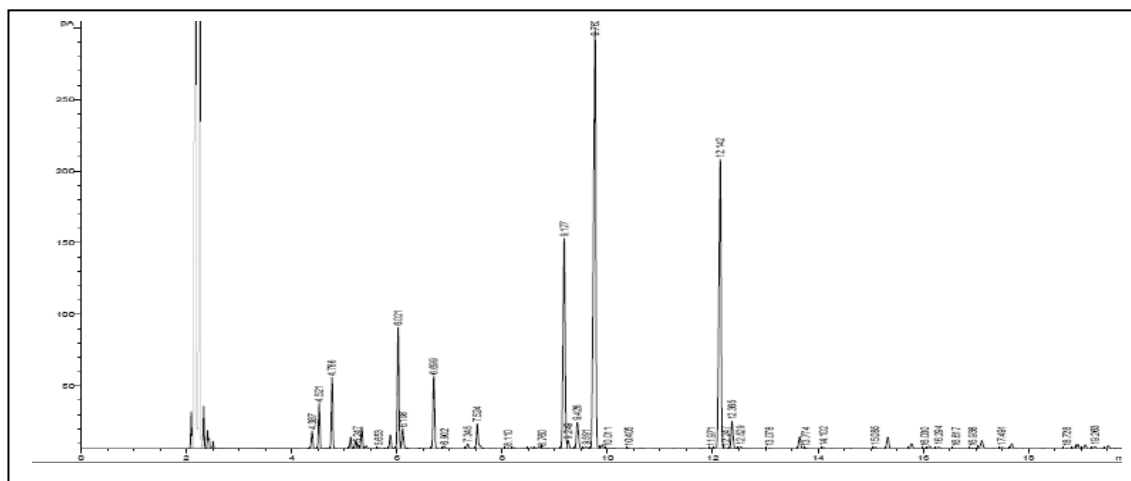
*Thymus vulgaris*

## Annexe II : Aspects et couleurs des échantillons des huiles essentielles

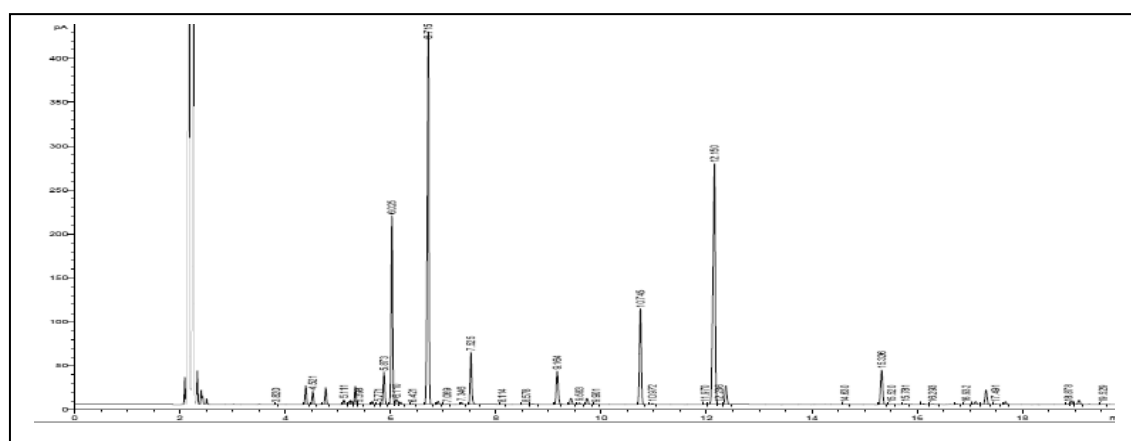
Echantillon		Aspect de l'huile essentielle
<i>Saccocalyx satureioides</i>	S1	
	S2	
	S3	
	S4	
<i>Thymus vulgaris</i>	T2	
	T3	

## Annexe III : Spectres CG/CG-SM des différents échantillons d'huiles essentielles

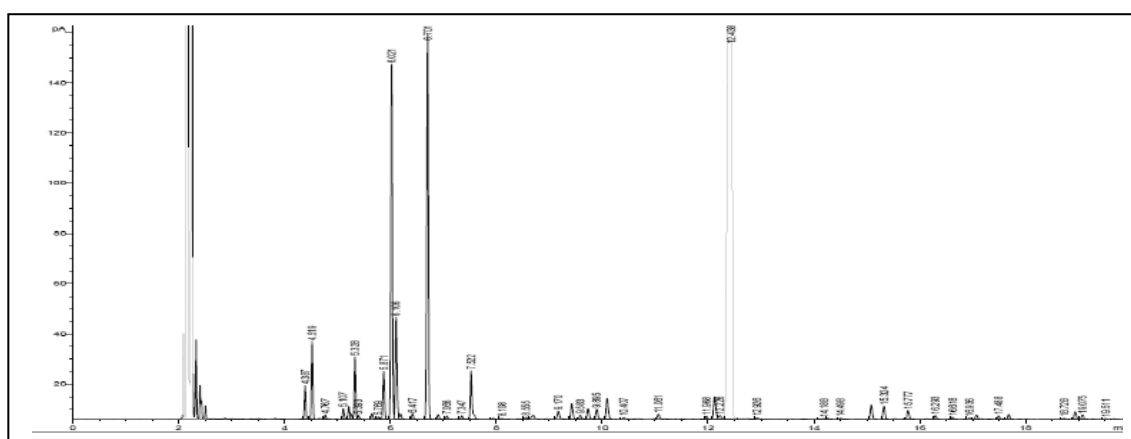
*Saccocalyx satureioides* (S1)*Saccocalyx satureioides* (S2)*Saccocalyx satureioides* (S3)



*Saccocalyx satureioides* (S4)

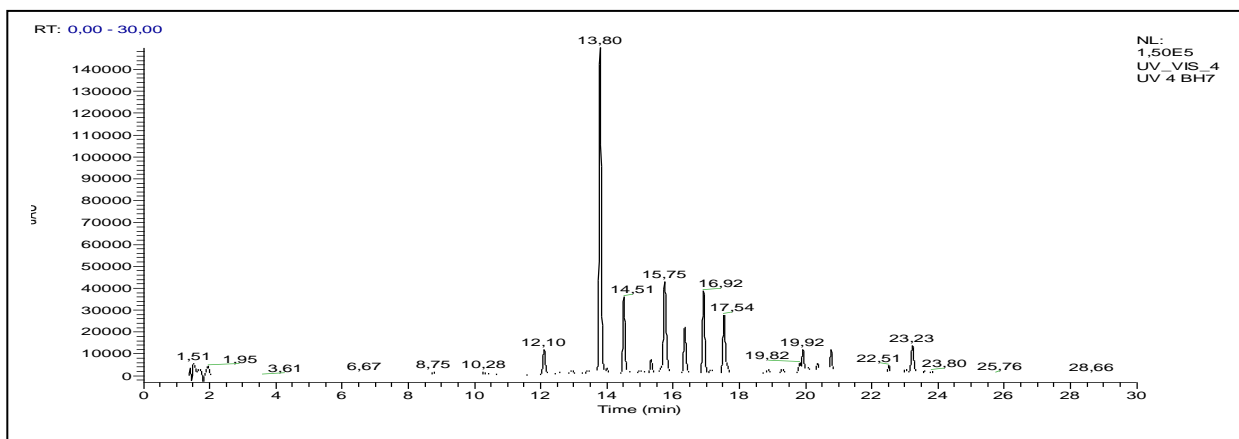
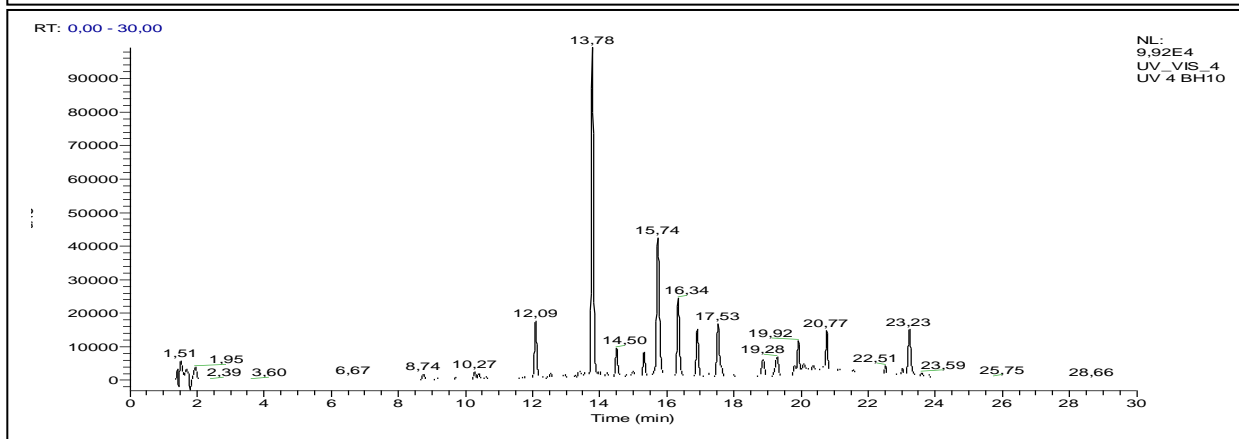
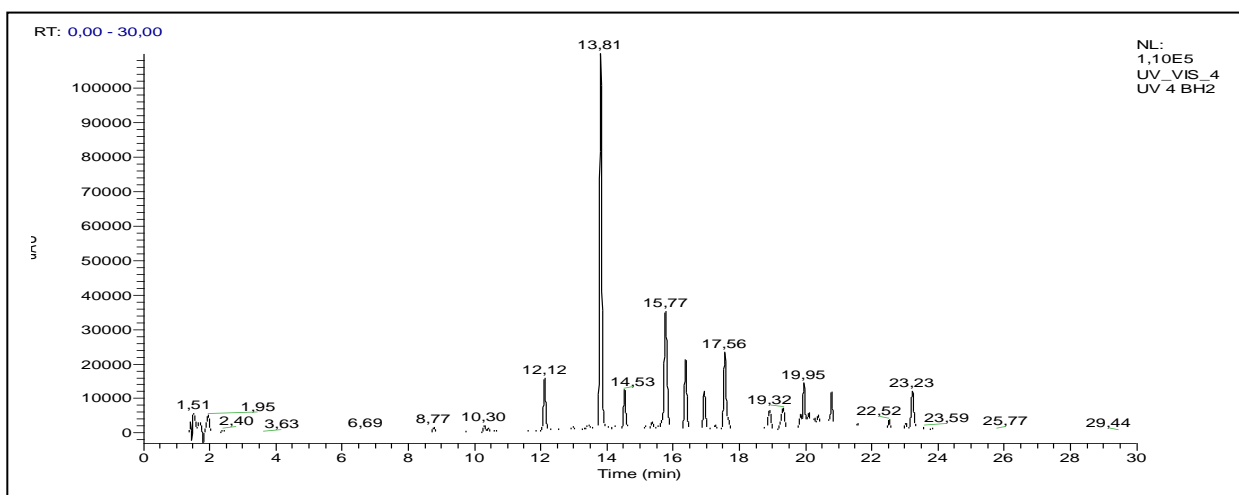


*Thymus vulgaris* (T2)

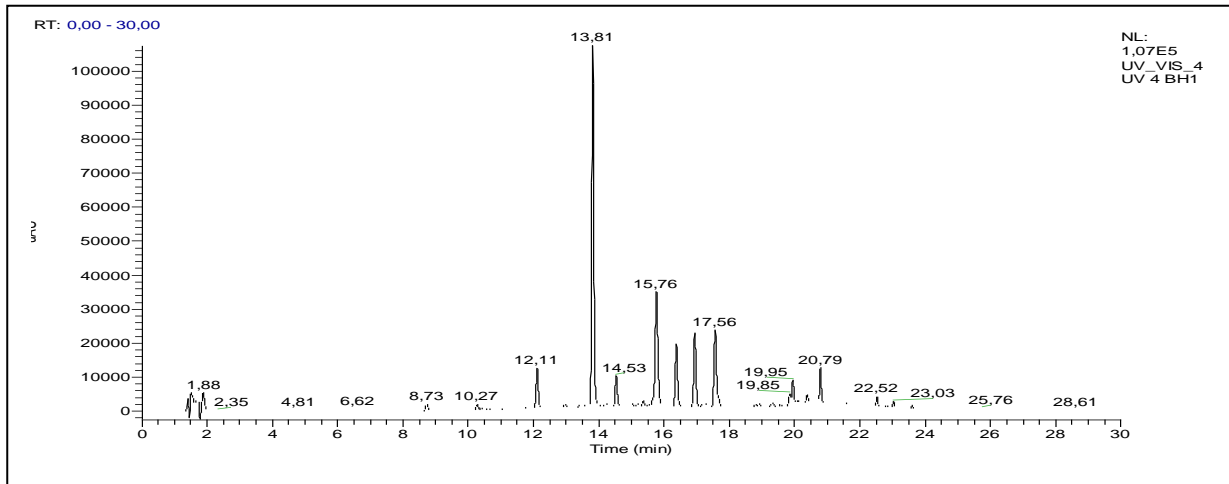


*Thymus vulgaris* (T3)

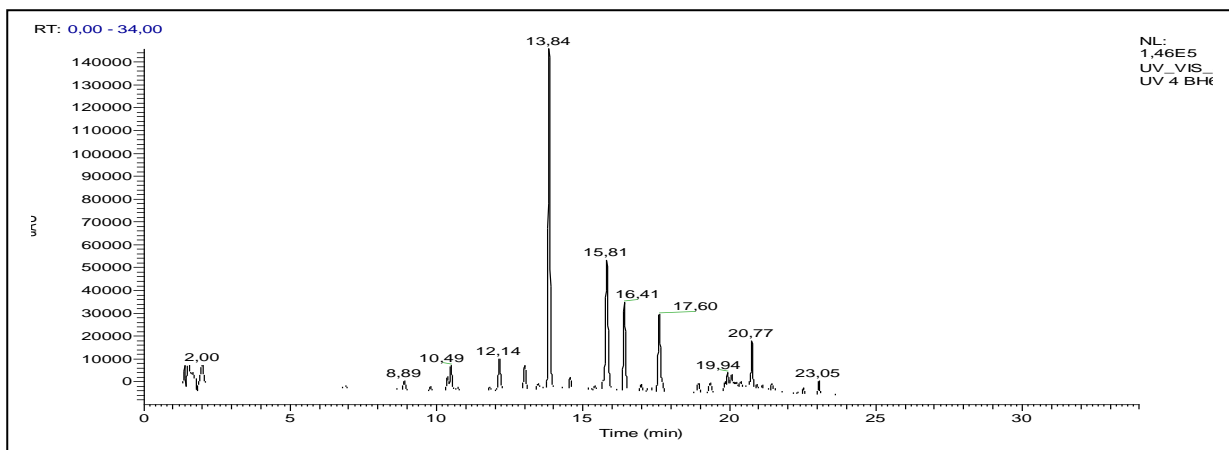
## Annexe IV : Chromatogramme HPLC des extraits phénoliques

*Saccocalyx satureioides* (S1) MeOH/Acé/H<sub>2</sub>O*Saccocalyx satureioides* (S2) MeOH/H<sub>2</sub>O*Saccocalyx satureioides* (S3) MeOH/H<sub>2</sub>O

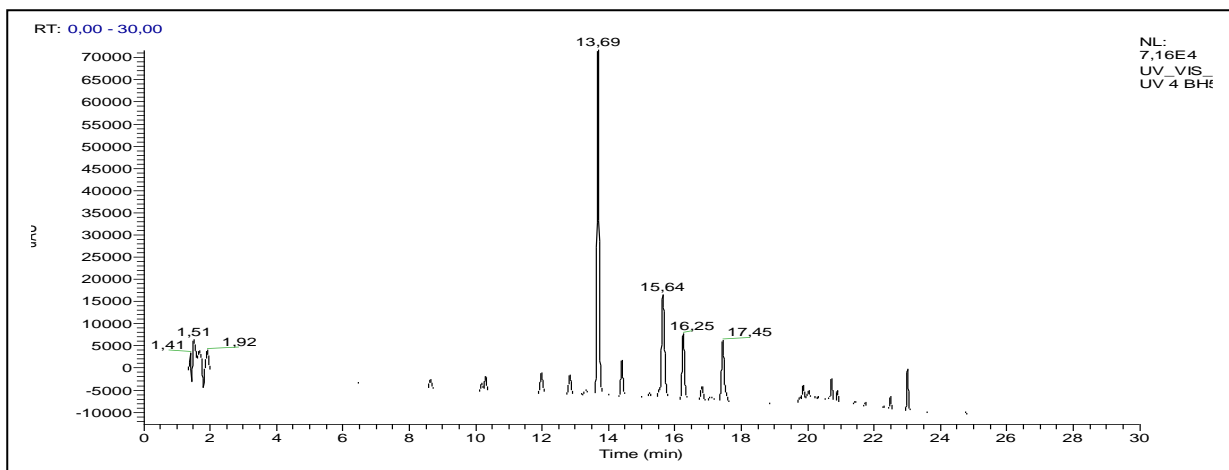




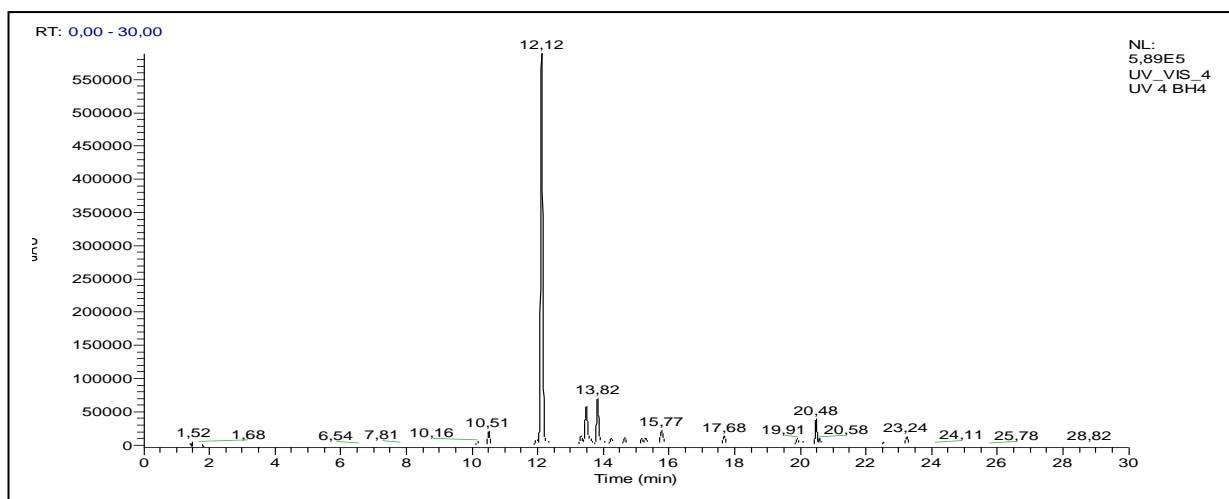
*Saccocalyx satureioides* (S3) MeOH/Acé/H<sub>2</sub>O



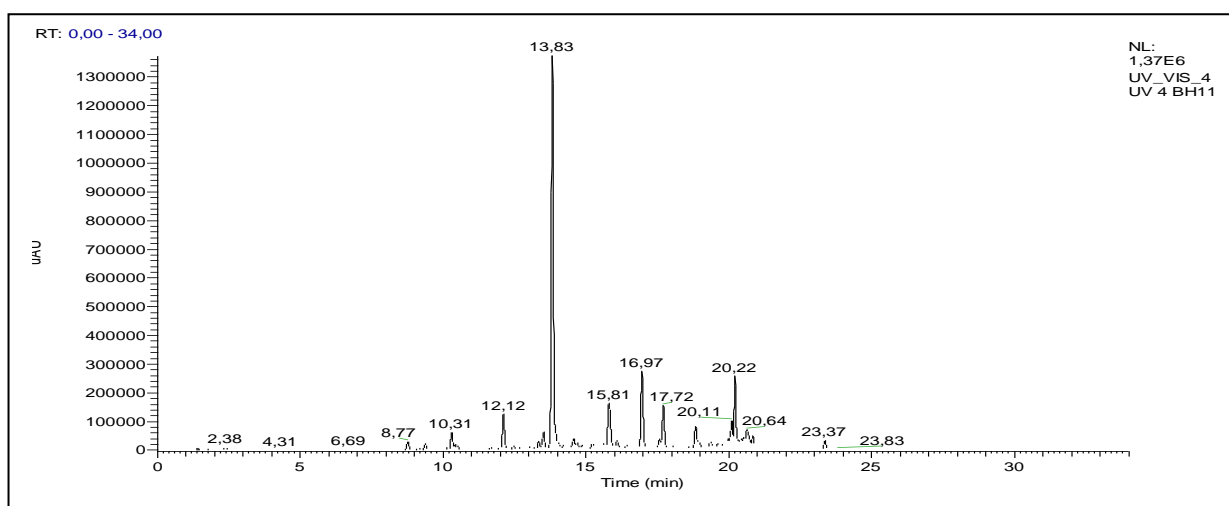
*Saccocalyx satureioides* (S4) MeOH/H<sub>2</sub>O



*Saccocalyx satureioides* (S4) MeOH/Acé/H<sub>2</sub>O



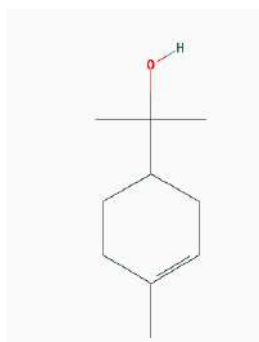
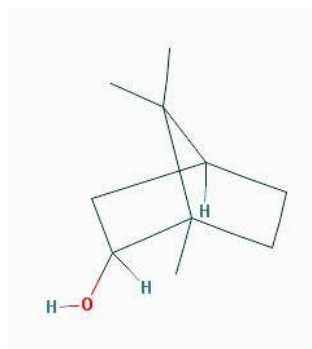
*Thymus vulgaris* (T2) MeOH/H<sub>2</sub>O



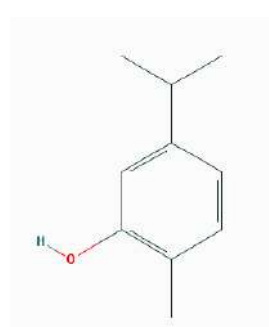
*Thymus vulgaris* (T3) MeOH/Acé/H<sub>2</sub>O

## Annexe V : structures des composés identifiés et spectres des fragments de la SM

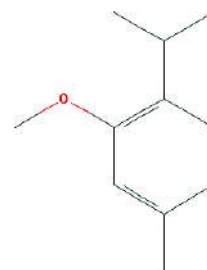
## 1. Structures des composés majoritaires des Huiles essentielles

 $\alpha$ -terpinéol

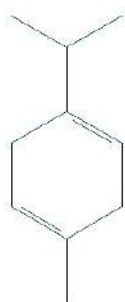
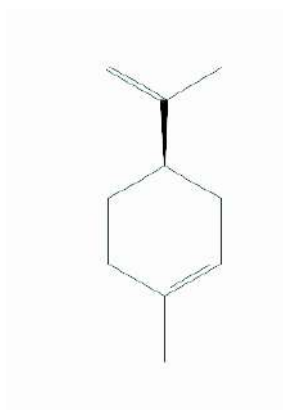
Bornéol



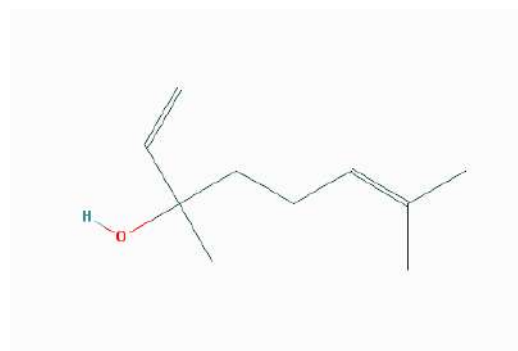
Carvacrol



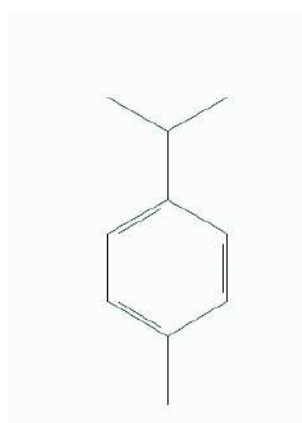
Tymol methyl-ether

 $\gamma$ -terpinene

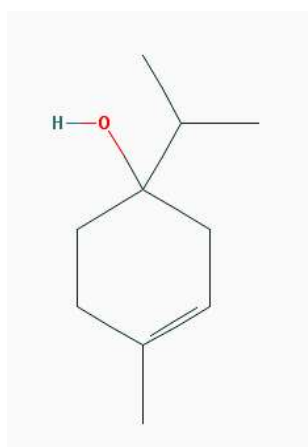
Limonene



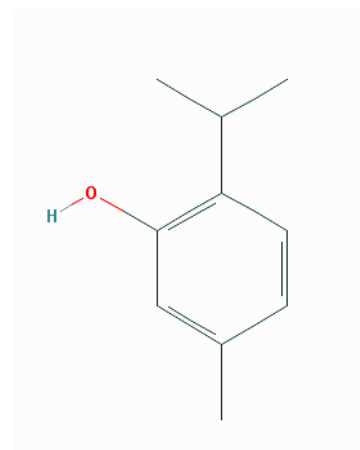
Linalool



p-cymene

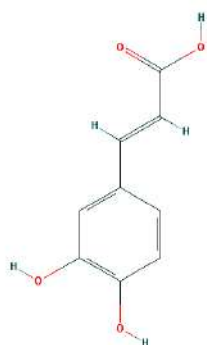


Terpinen-4-ol

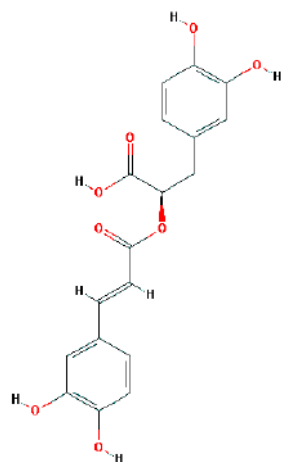


Thymol

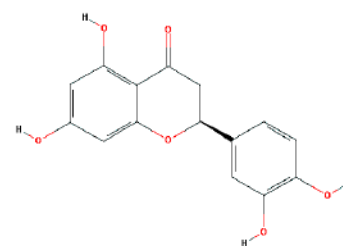
## 2. Structures des composés phénoliques identifiés et leurs spectres SM



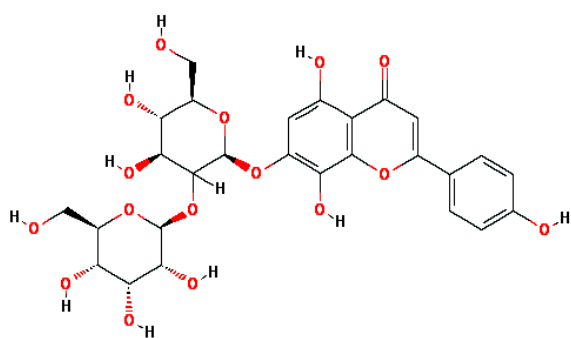
Acide caféique



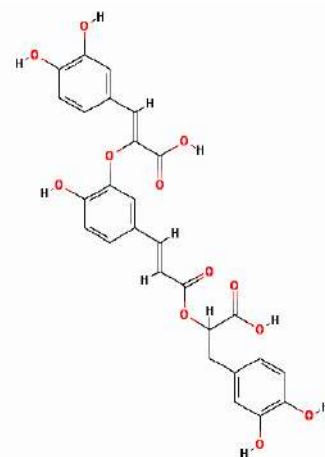
Acide rosmarinique



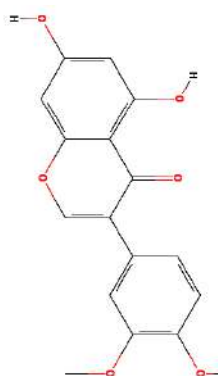
Eriodictyol



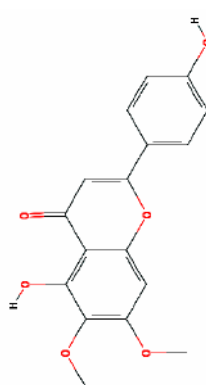
Isoscutellarein-7-O-allosyl (1-2) glucoside



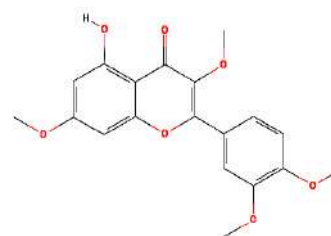
Acide isomelitrique [3'-O-(8''-Z-Caffeoyl) rosmarinic acid]



3'-O-methylrobol

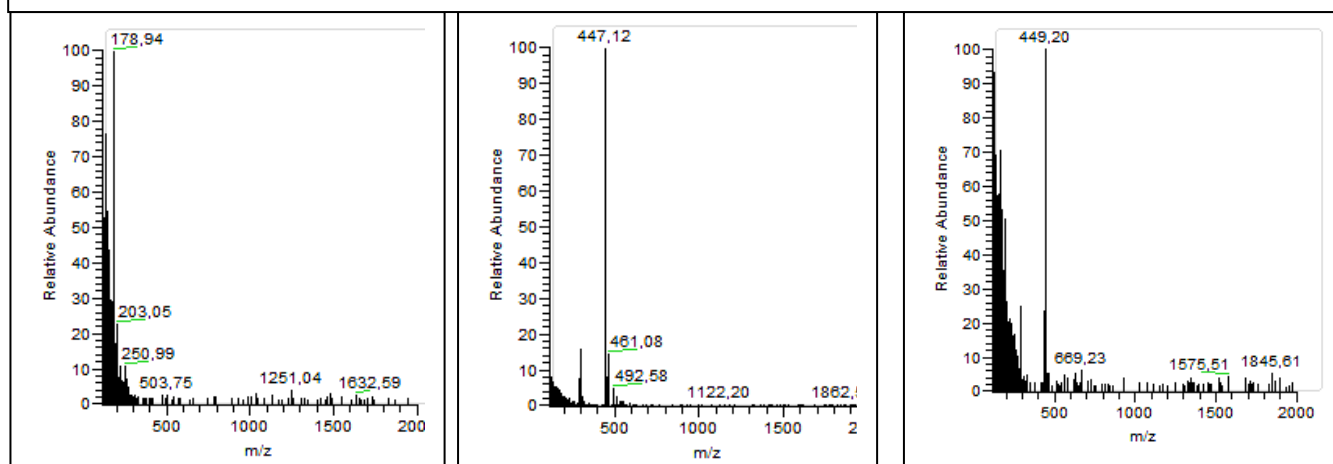


Cirsimaritin

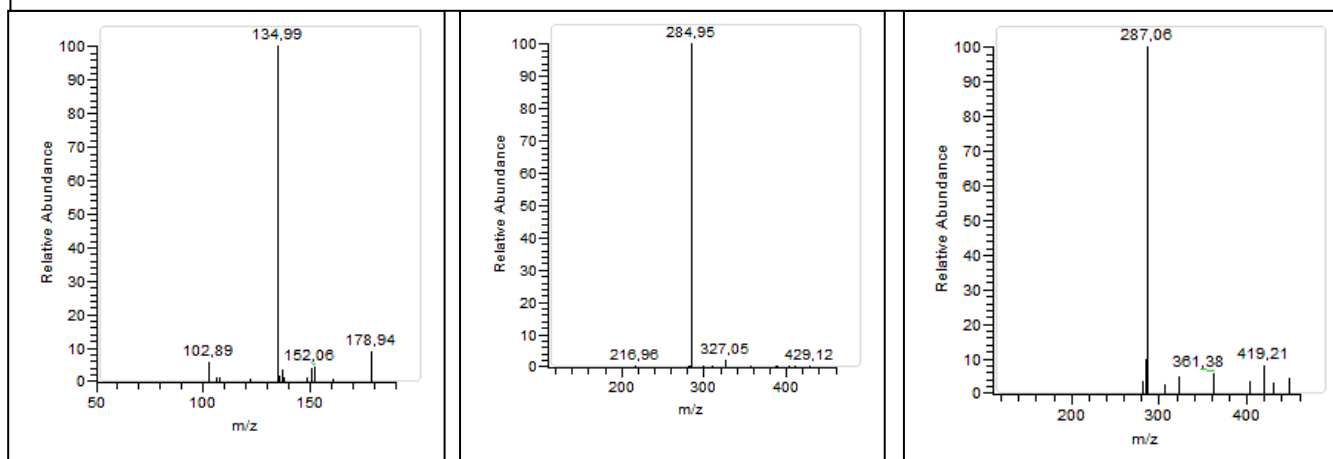


Quercetin-tetramethylether

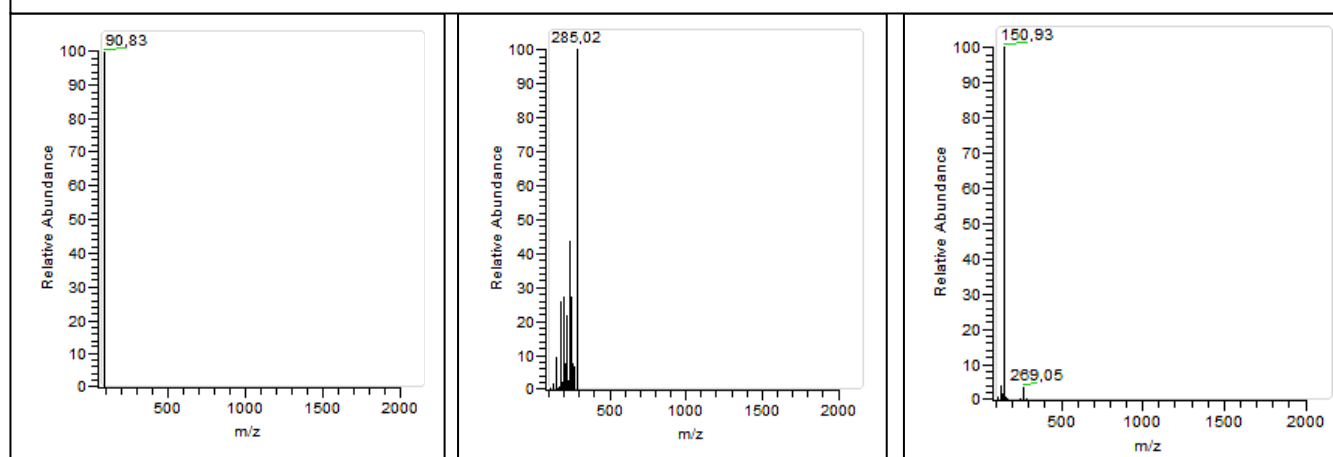
## Fragments de la MS1 (M-H)



## Fragments de la MS2



## Fragments de la MS3

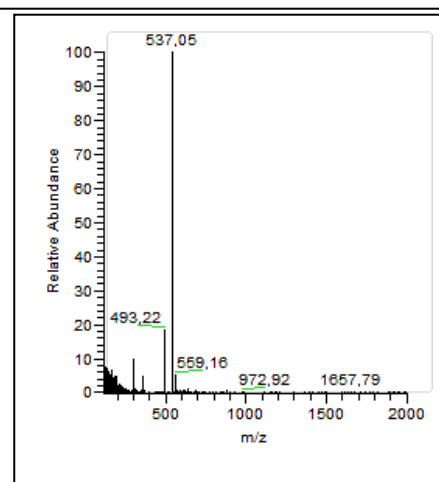
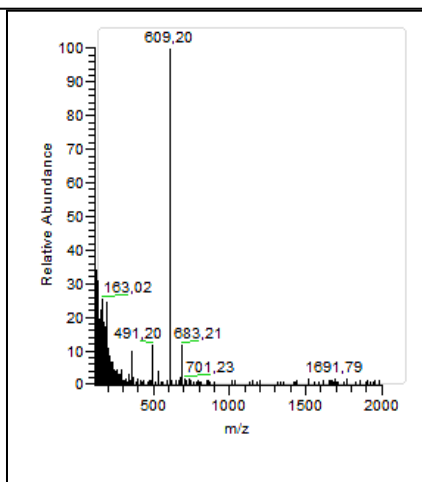
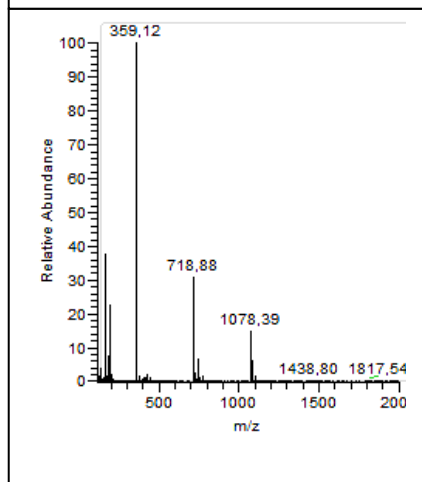


L'acide caffeïque

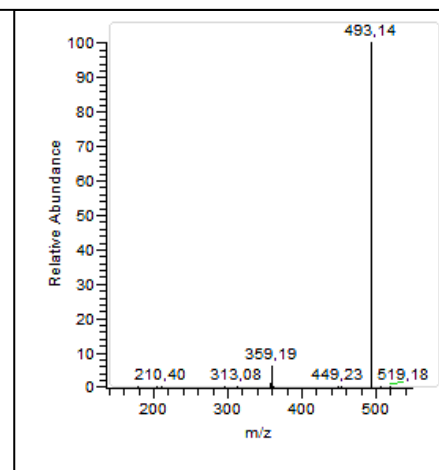
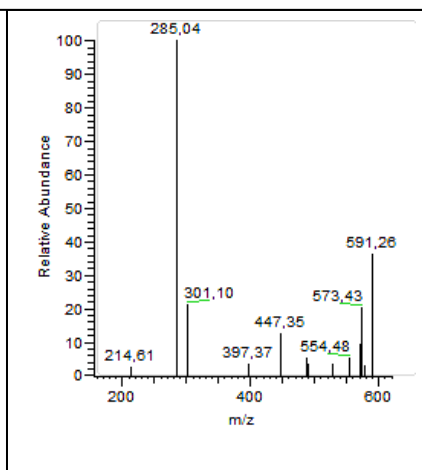
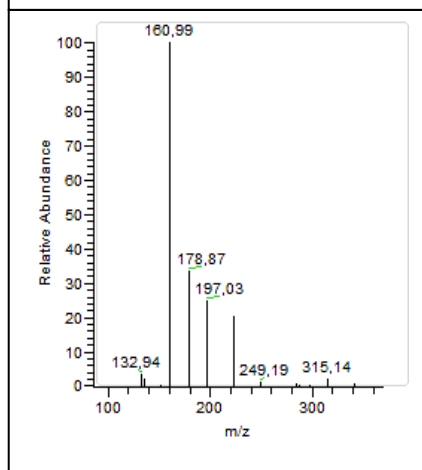
Tetrahydroxyisoflavone-O-hexoside

Eriodityol-O-hexoside

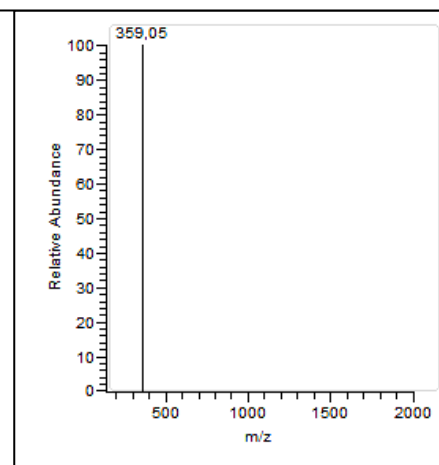
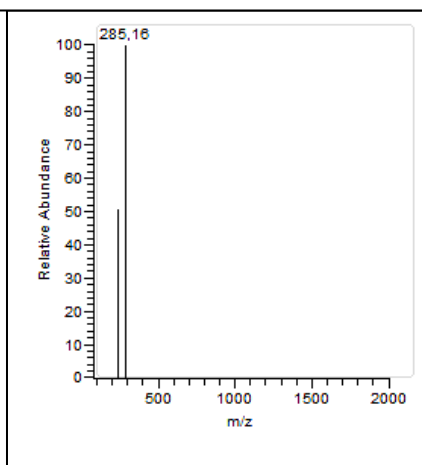
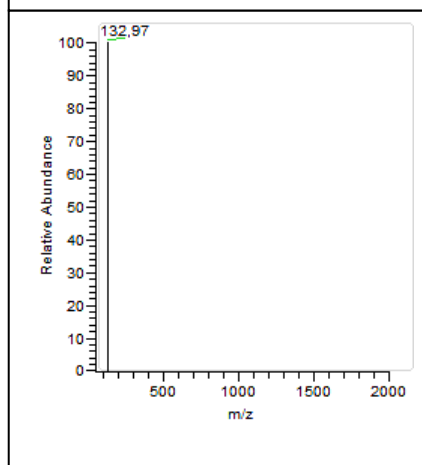
## Fragments de la MS1 (M-H)



## Fragments de la MS2



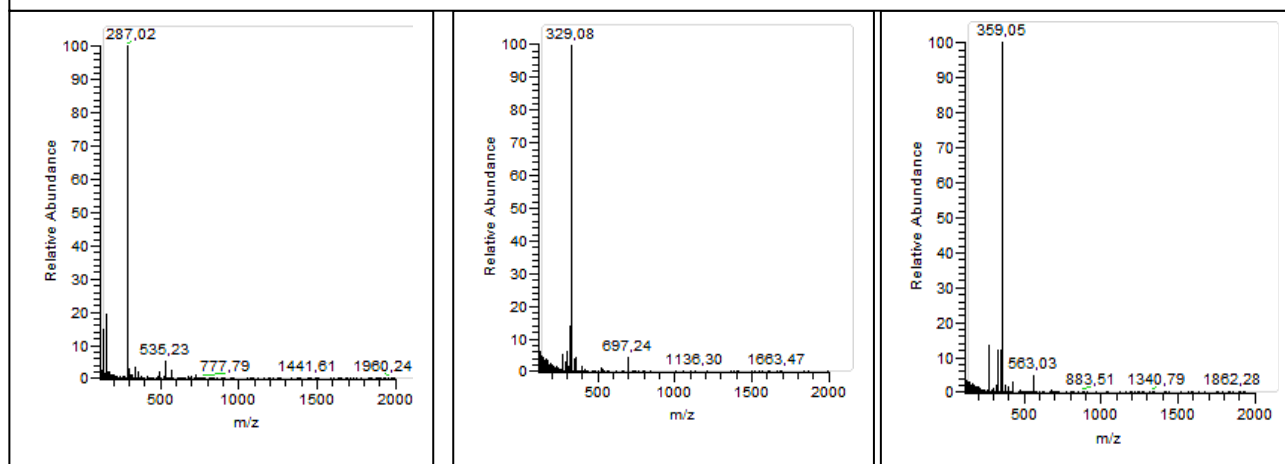
## Fragments de la MS3



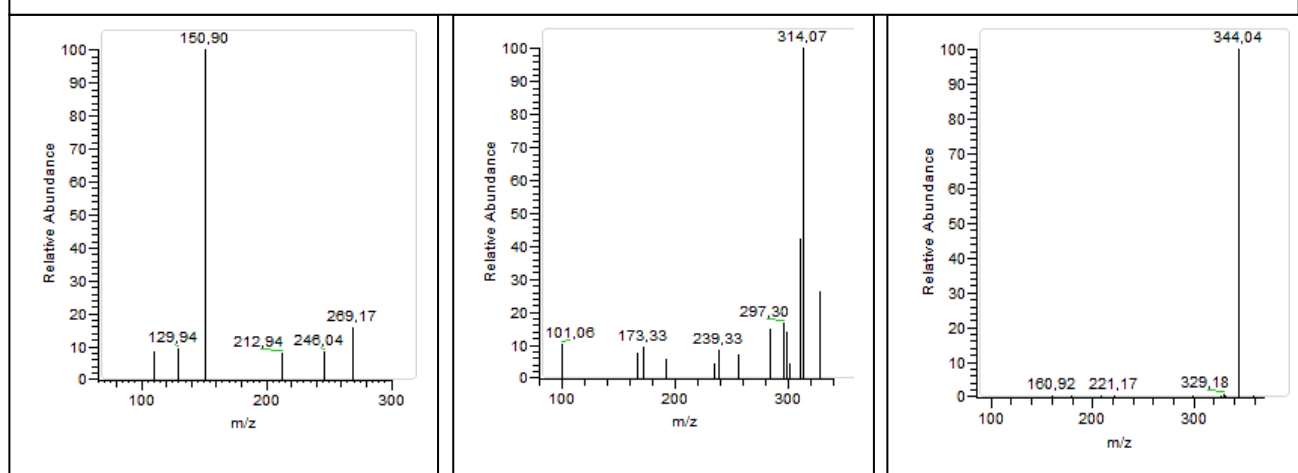
Acide rosmarinique

Isoscutellarein-7-O-allosyl  
(1-2) glucosideAcide isomelitrique [3'-O-(8''-  
Z-Caffeoyl) rosmarinic acid]

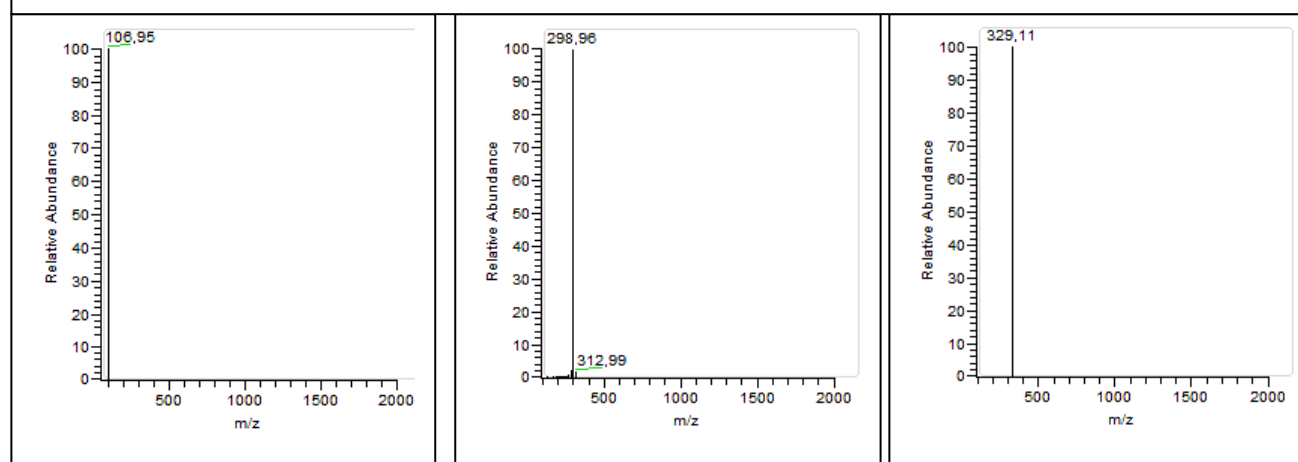
## Fragments de la MS1 (M-H)



## Fragments de la MS2



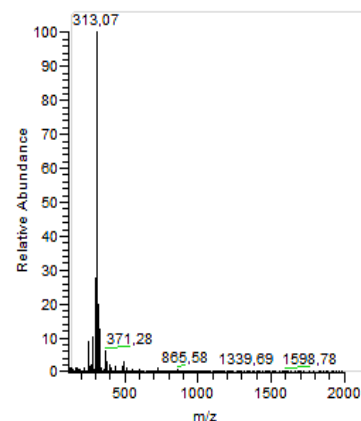
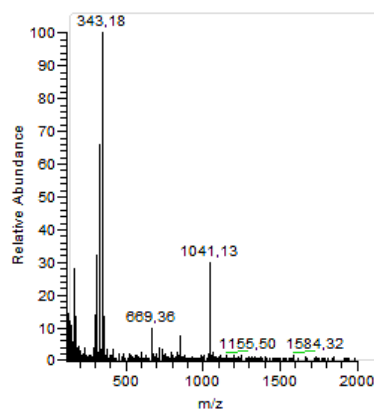
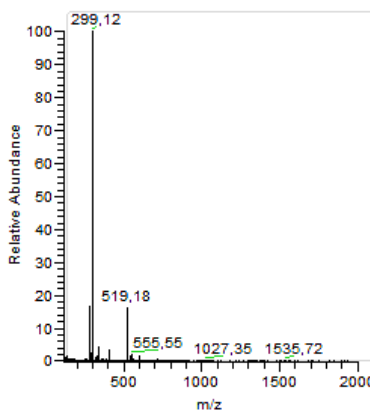
## Fragments de la MS3



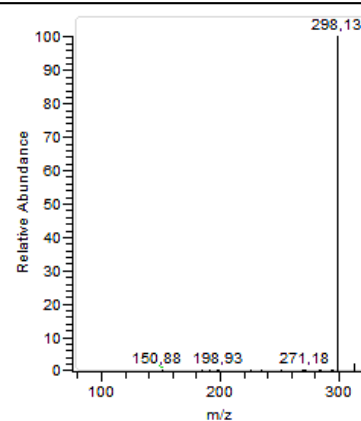
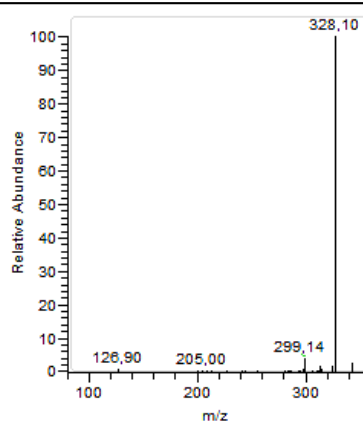
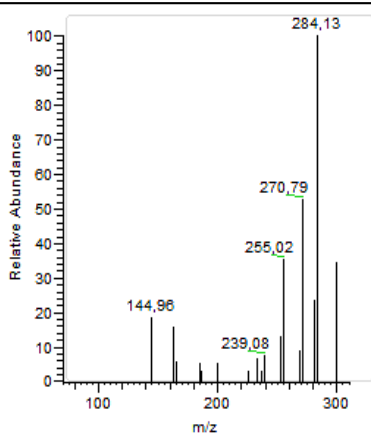
Eriodictyol

Kaempferol-methoxy-  
methyletherQuercetin-tetramethylether/  
3,5-dihydroxy-6,7,4'-  
trimethoxyflavone

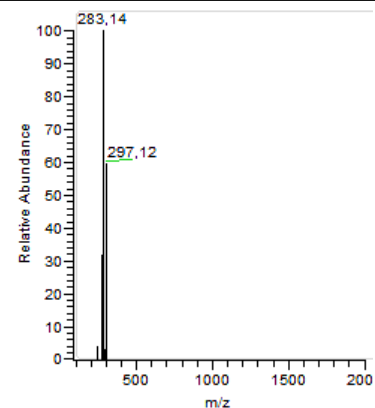
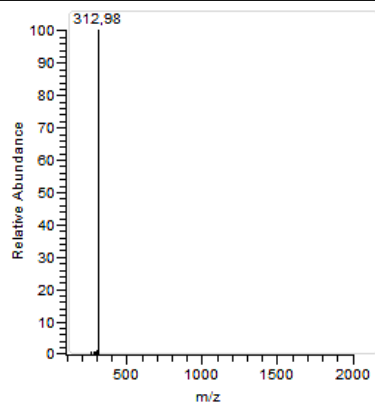
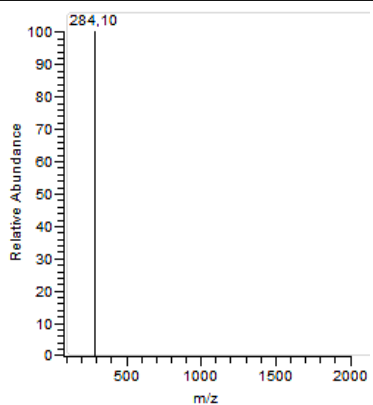
## Fragments de la MS1 (M-H)



## Fragments de la MS2



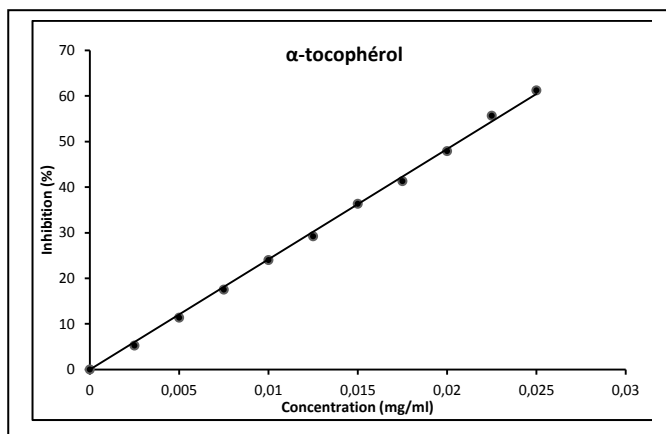
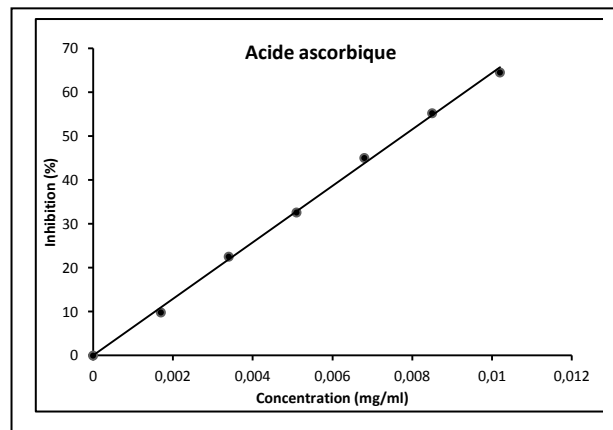
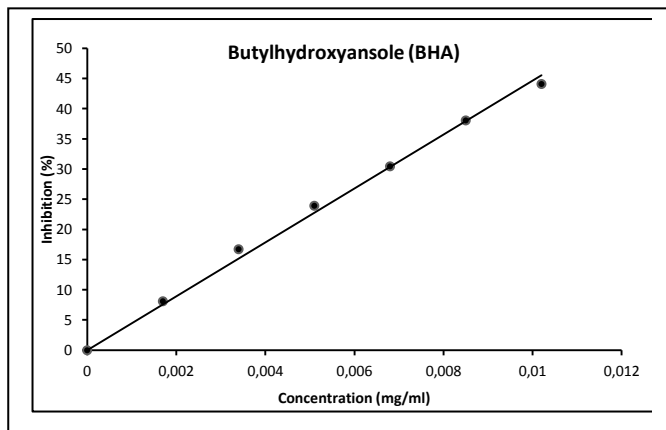
## Fragments de la MS3

Isomère de 3'-O-  
methylrobol3-hydroxy-6,7,4'-  
trimethoxyflavone

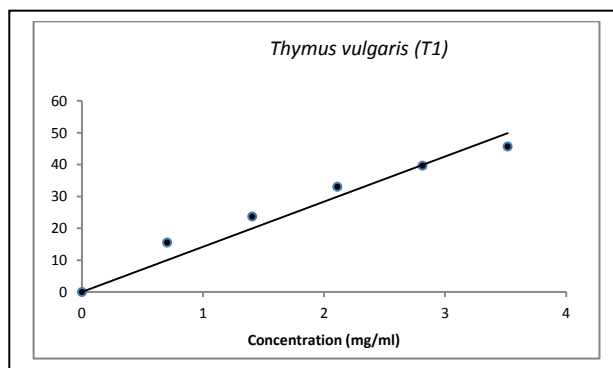
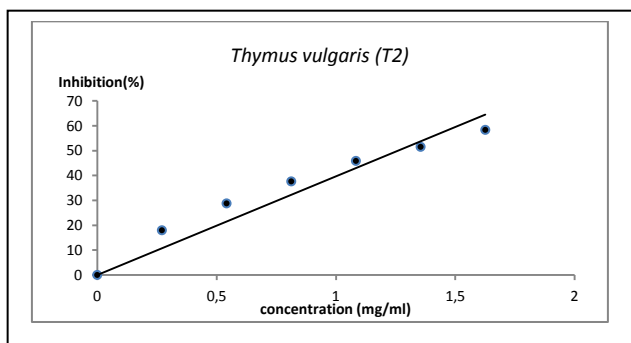
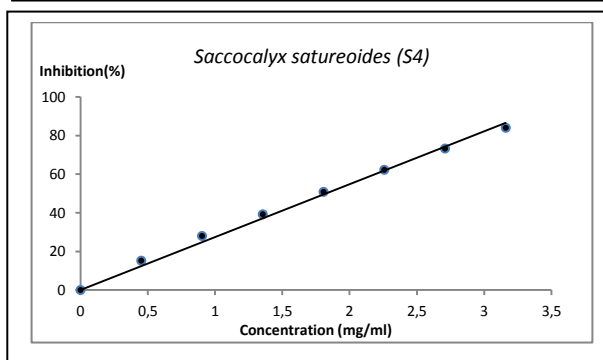
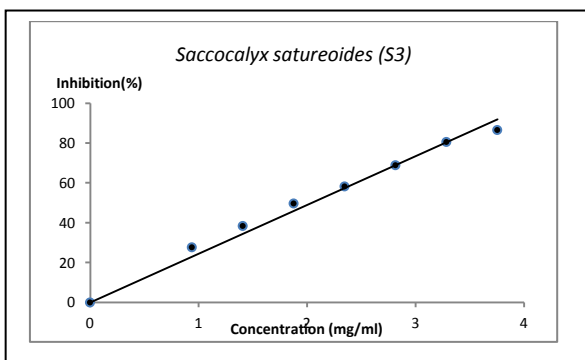
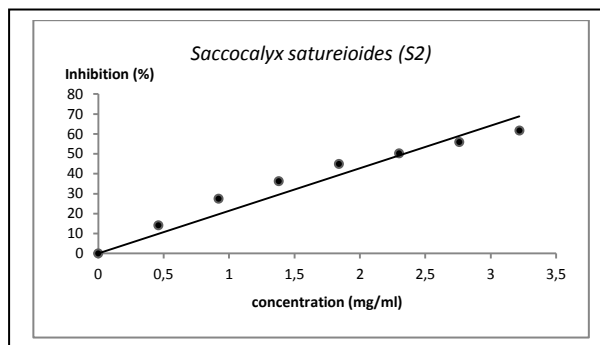
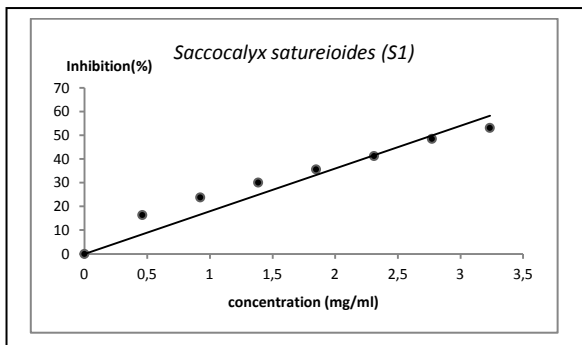
Cirsimaritin

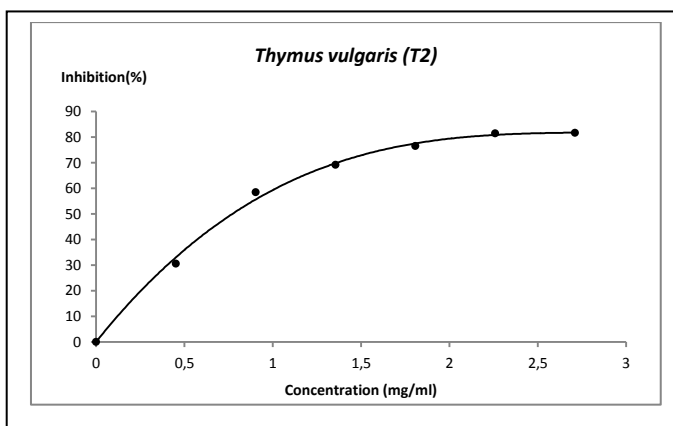
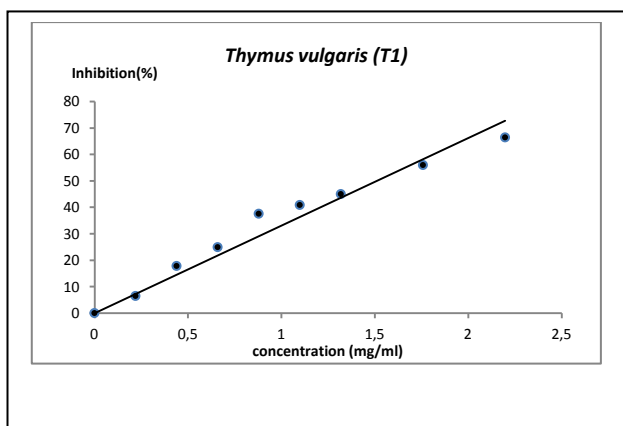
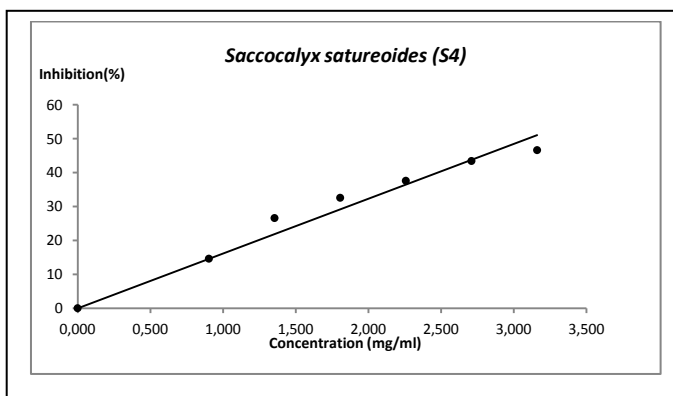
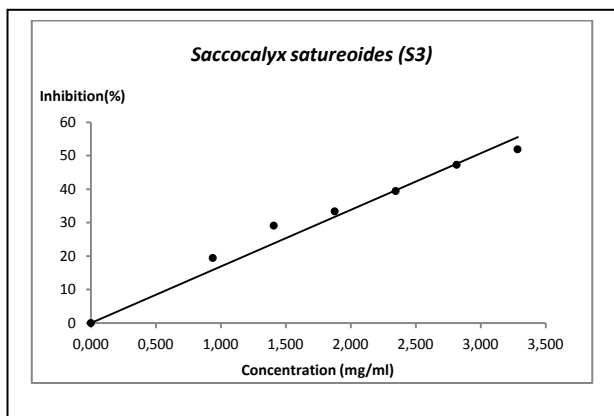
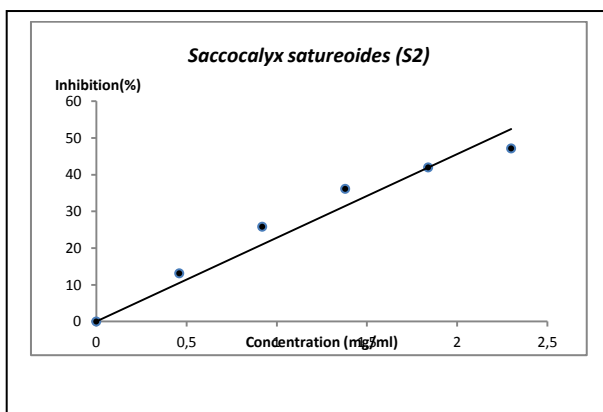
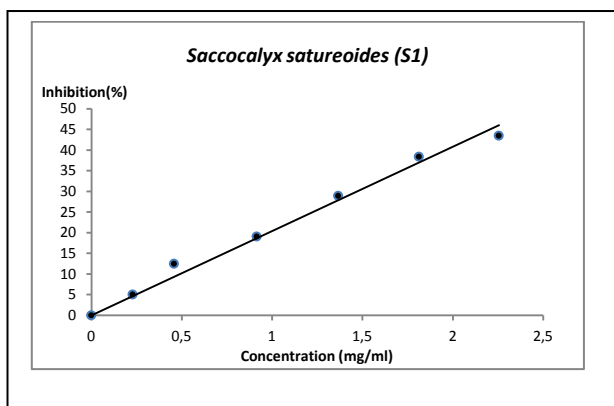


## Annexe V : Courbes DPPH standards

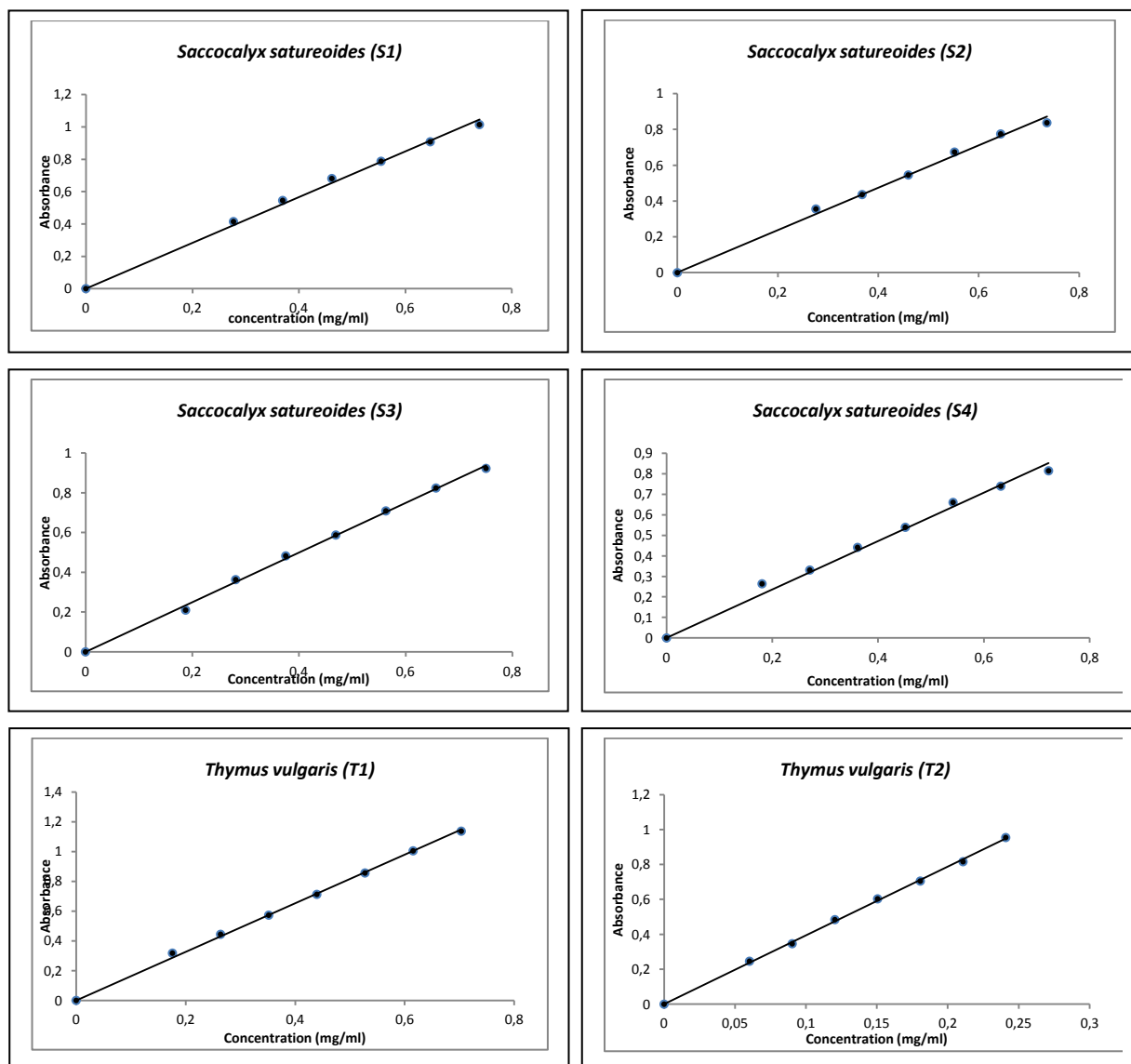


## Annexe VI : Courbes DPPH Huiles essentielles

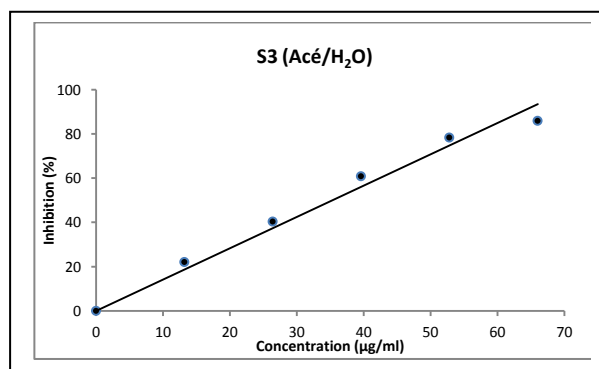
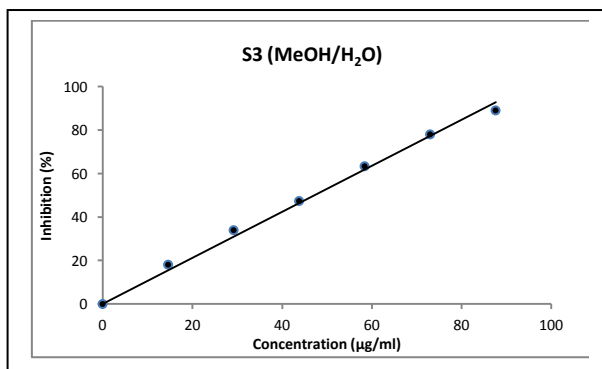
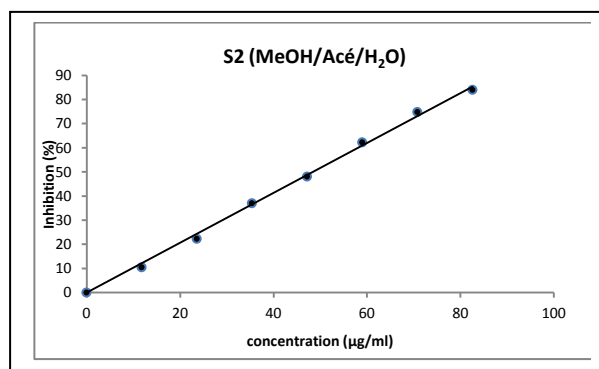
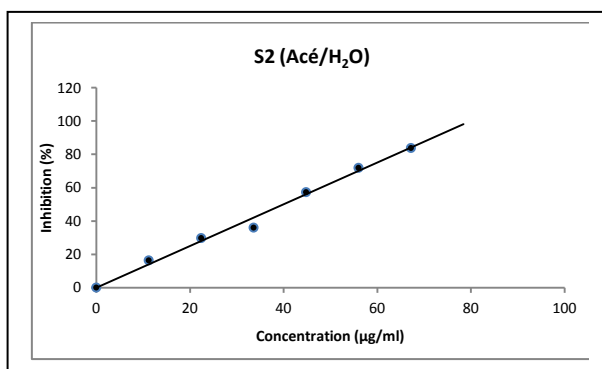
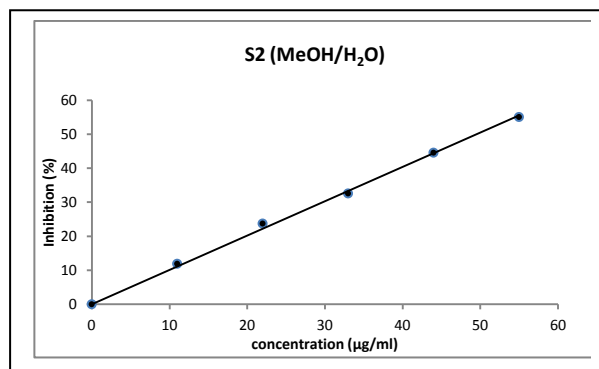
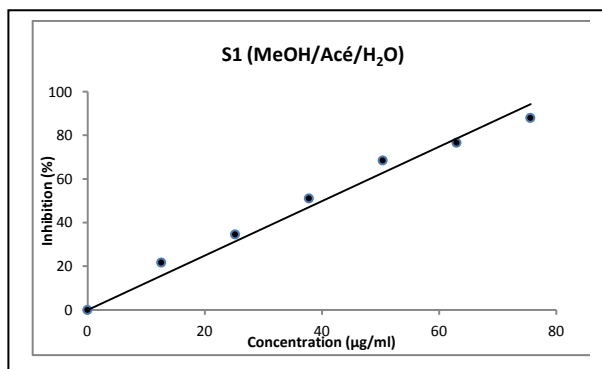
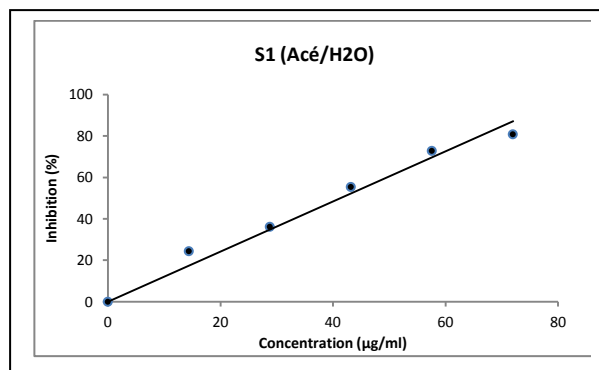
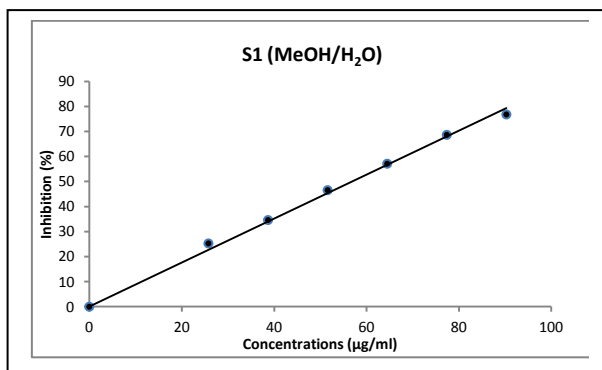


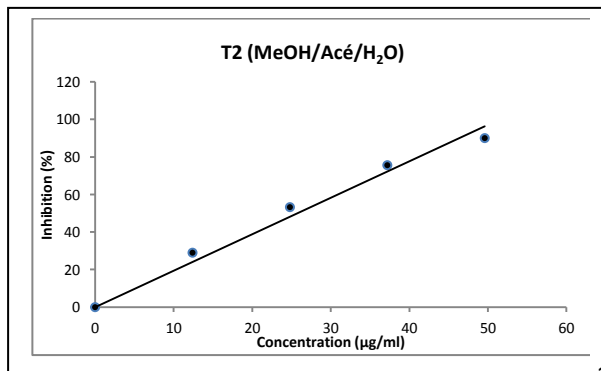
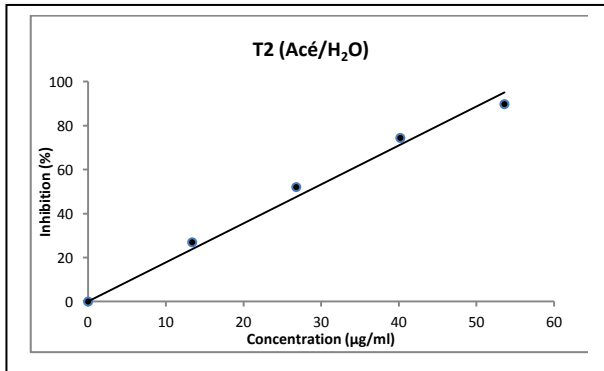
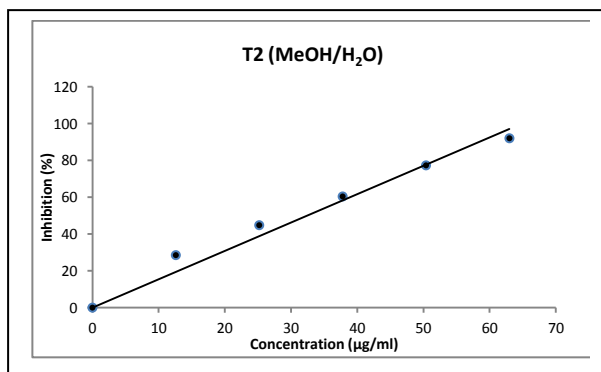
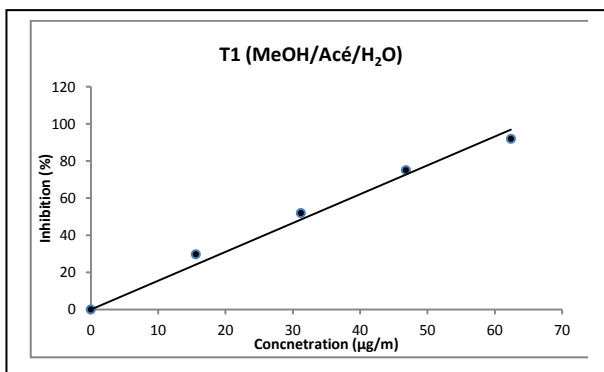
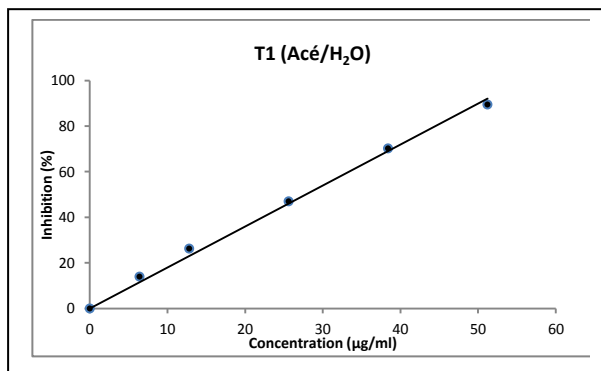
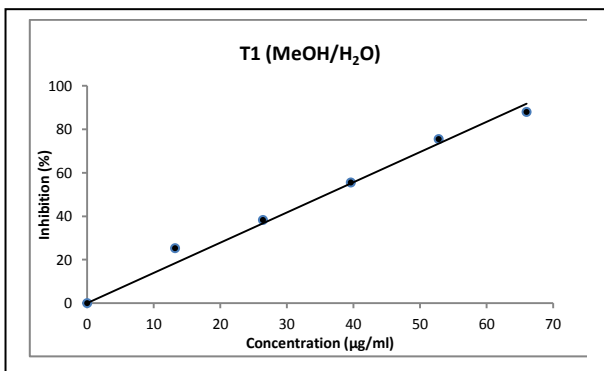
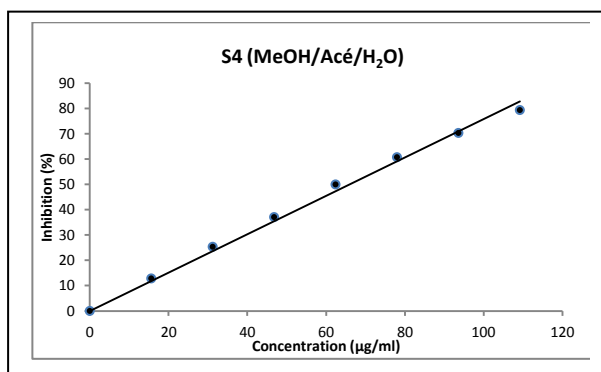
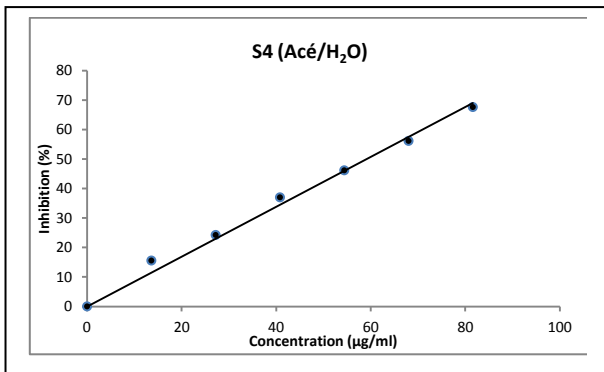
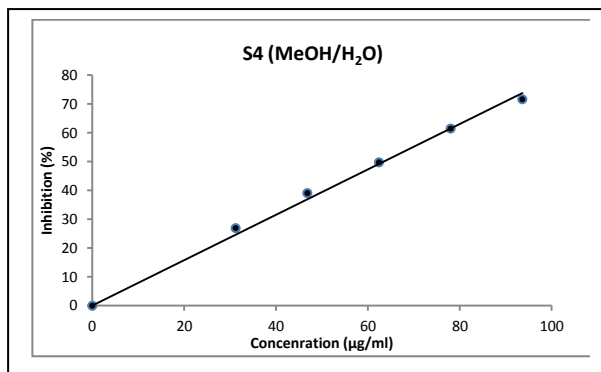
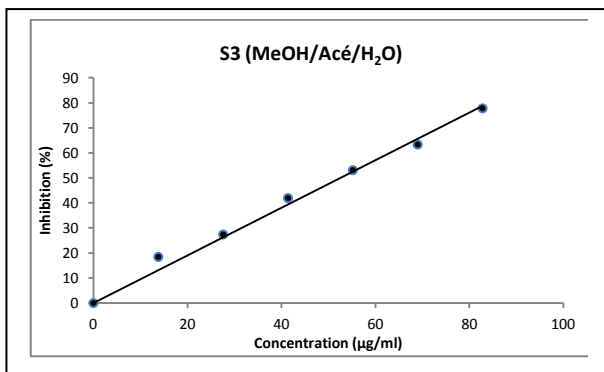
Annexe VIII: Courbes  $\beta$ -carotène Huiles essentielles

## Annexe IX: Courbes CUPRAC Huiles essentielles

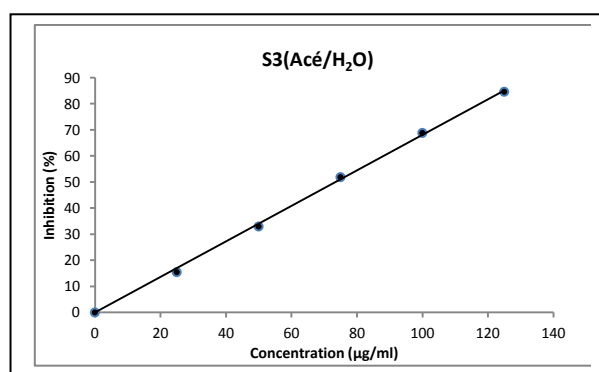
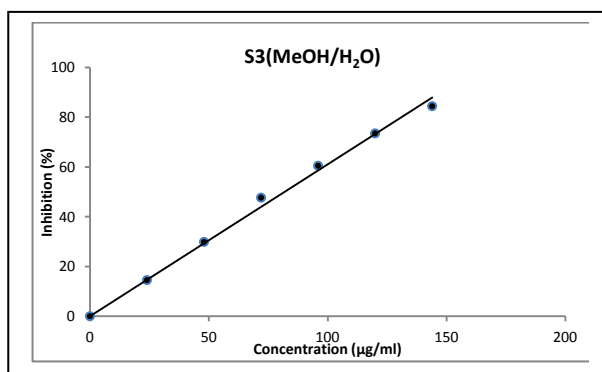
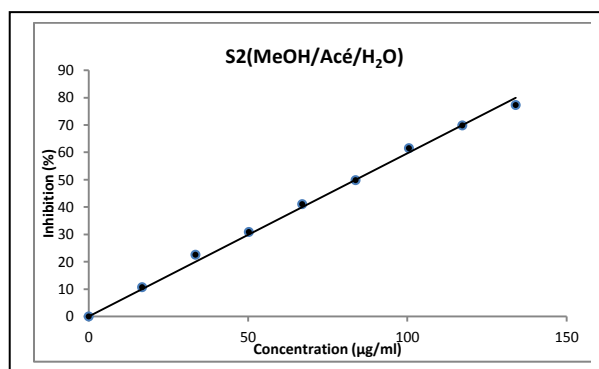
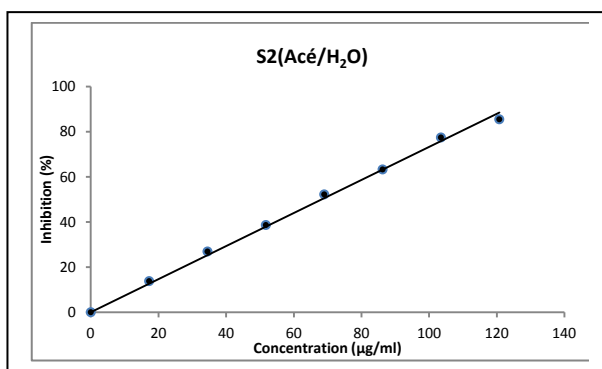
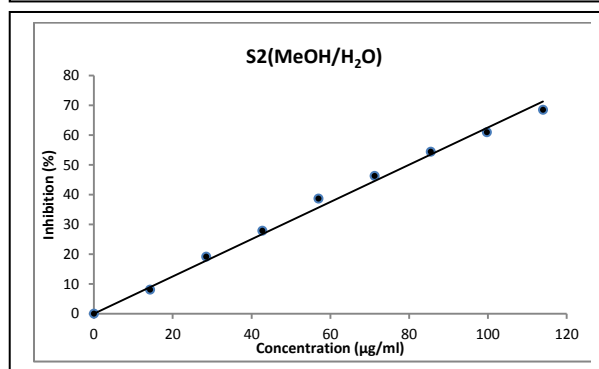
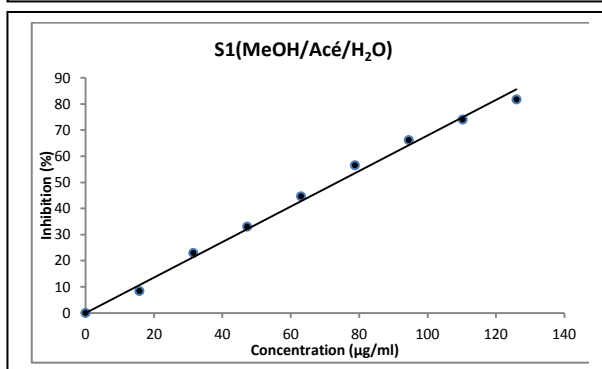
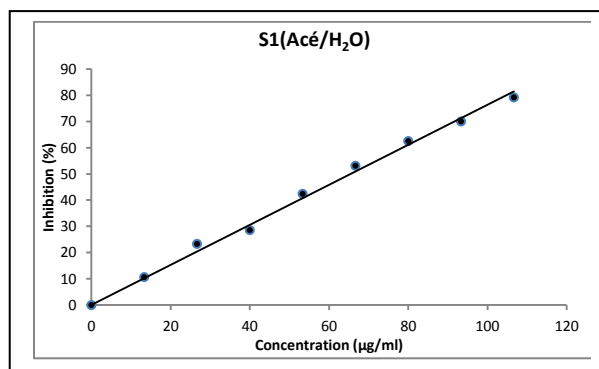
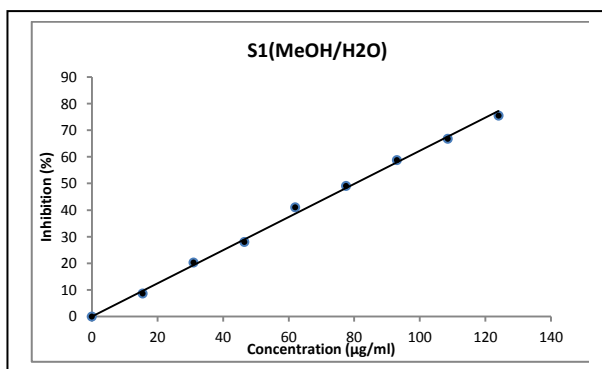


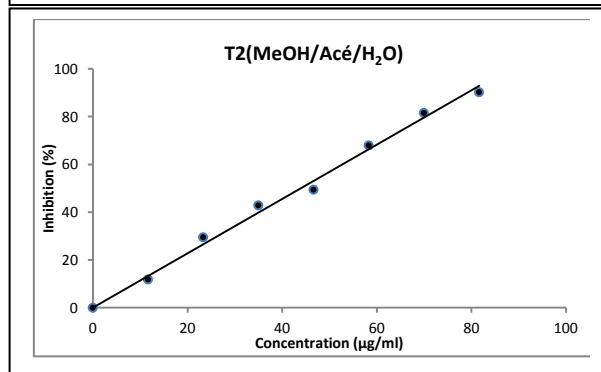
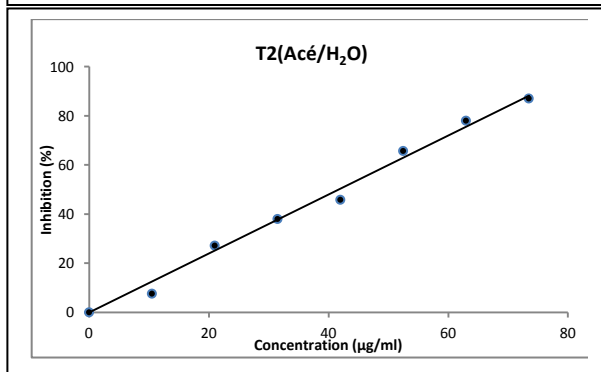
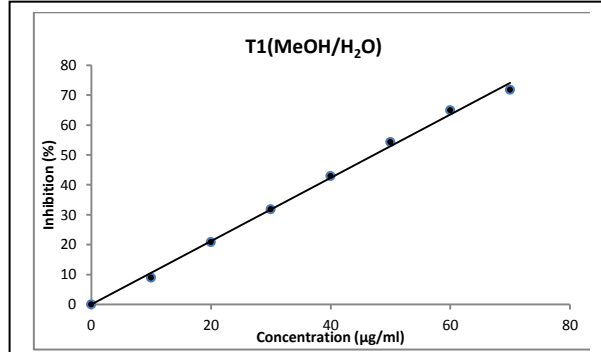
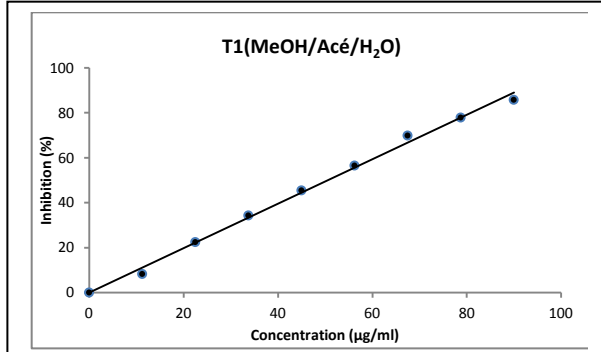
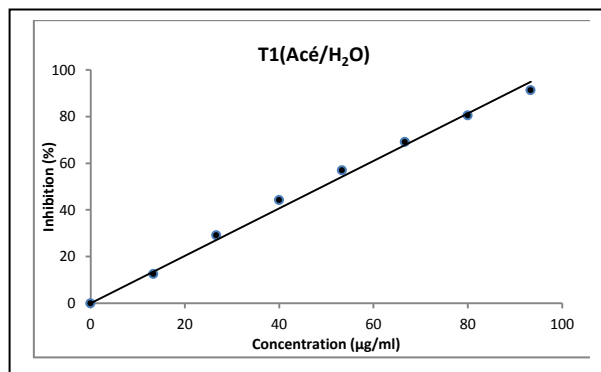
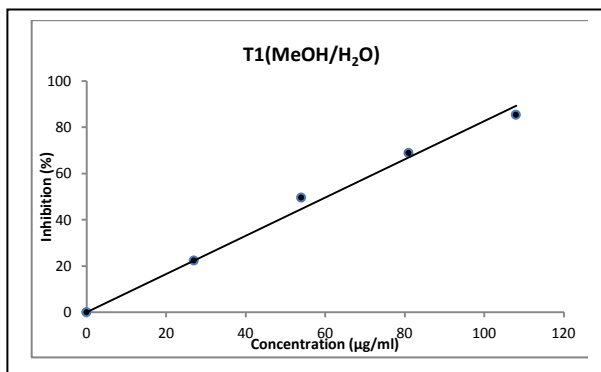
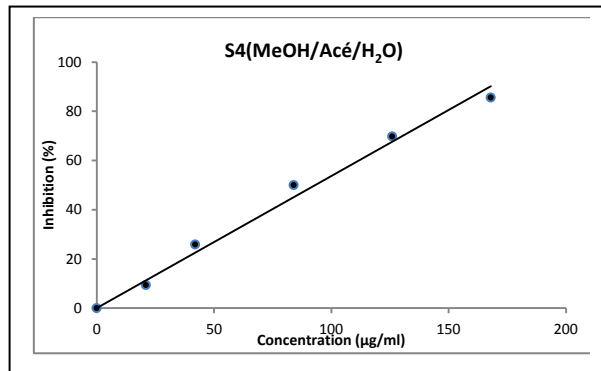
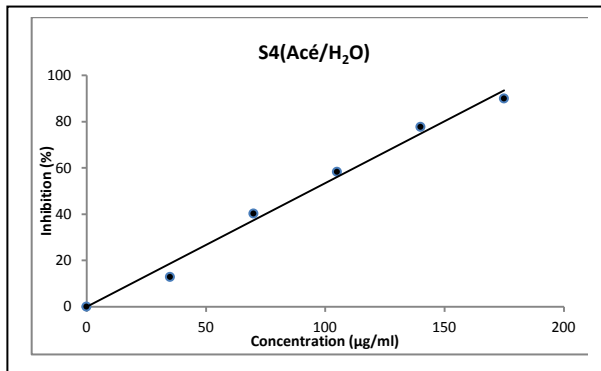
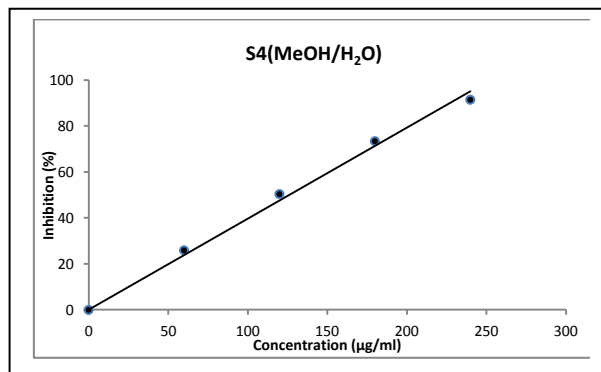
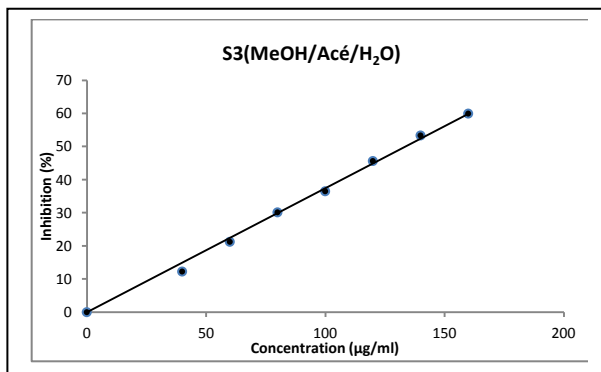
## Annexe X : Courbes DPPH extraits phénoliques





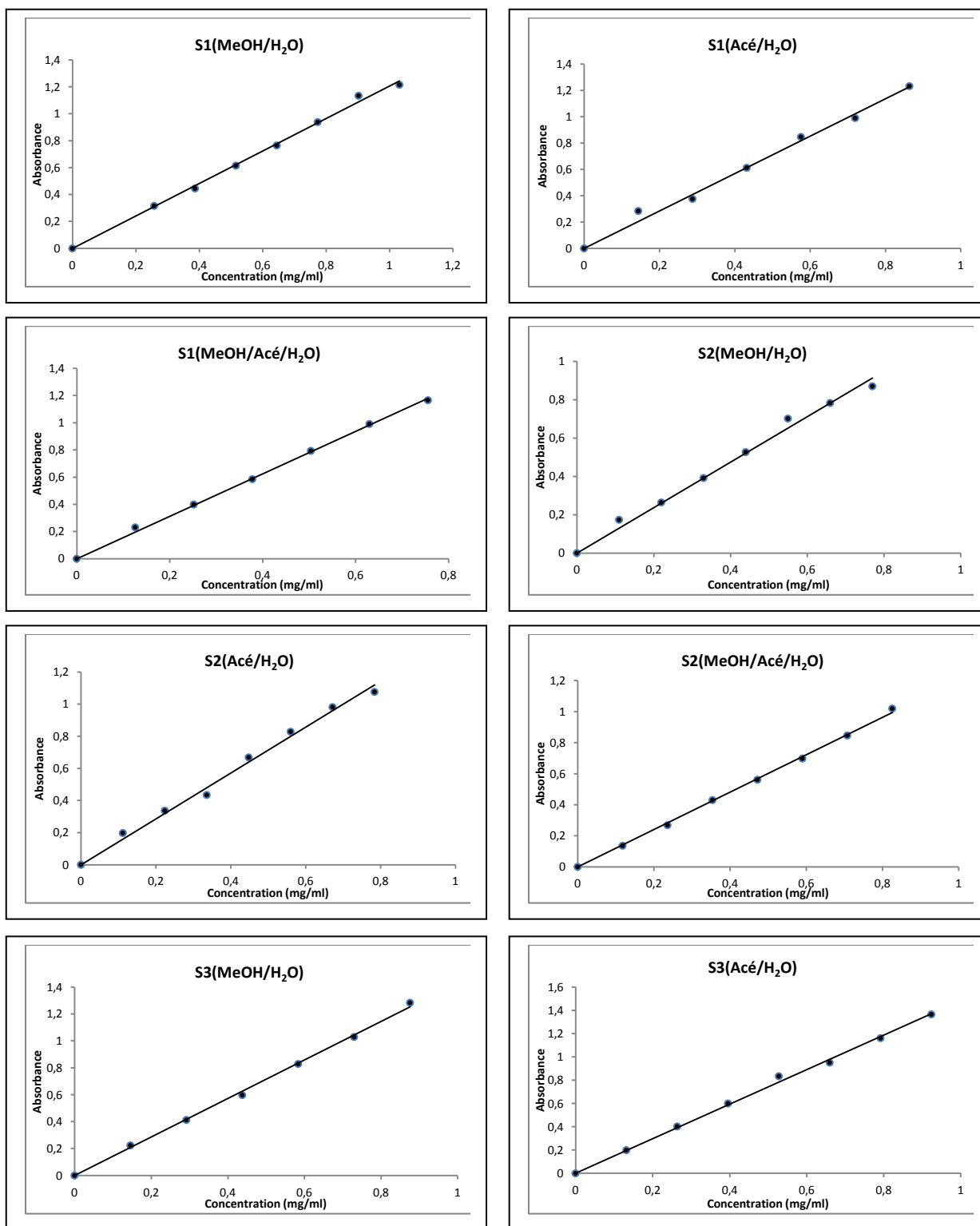
## Annexe XI : Courbes ABTS extraits phénoliques

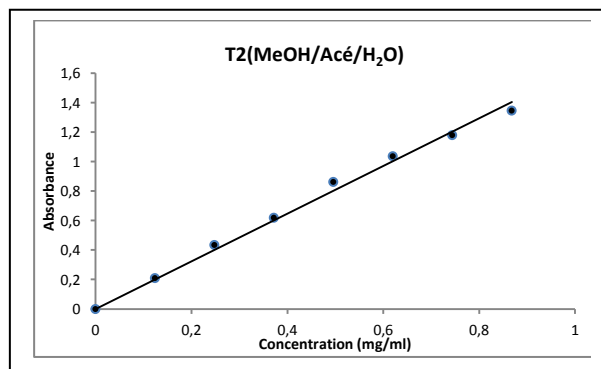
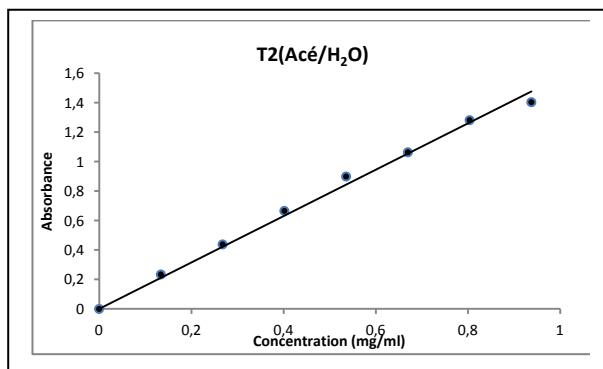
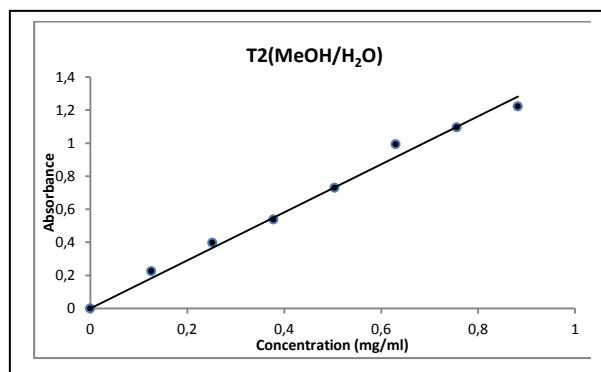
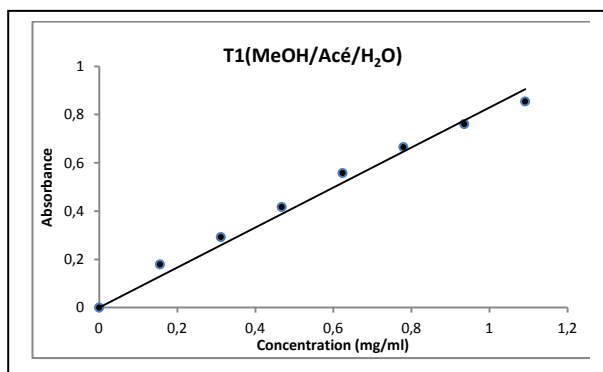
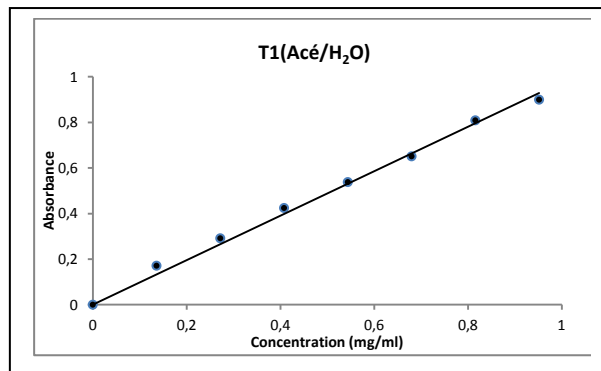
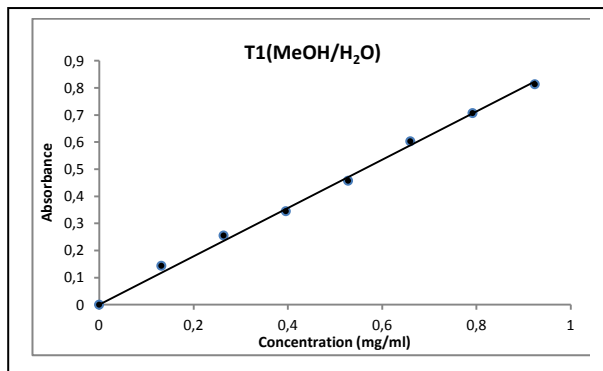
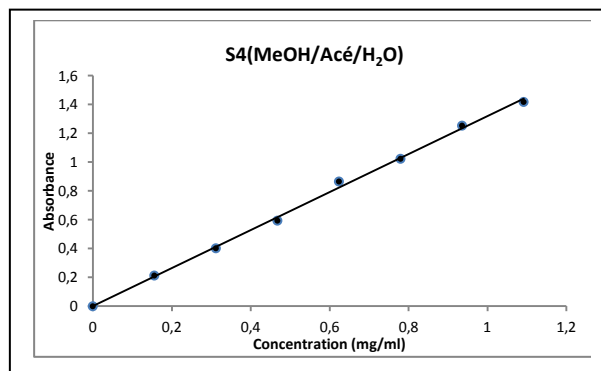
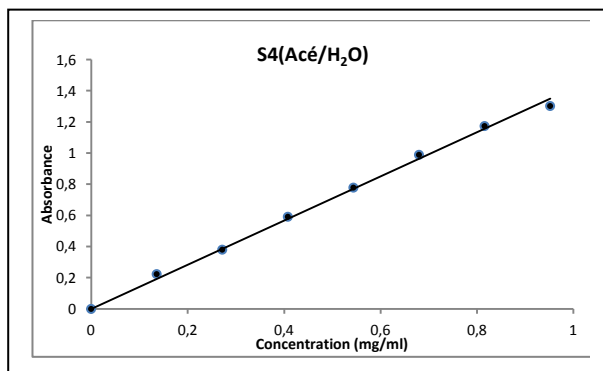
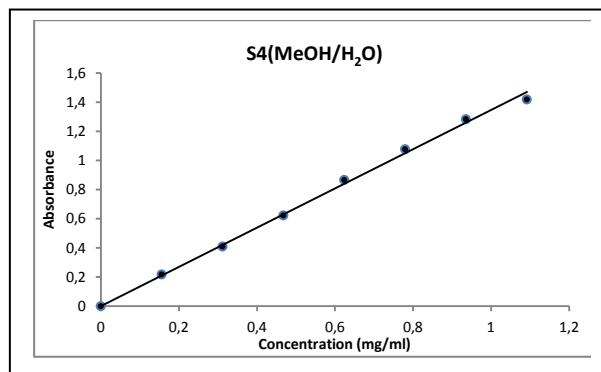
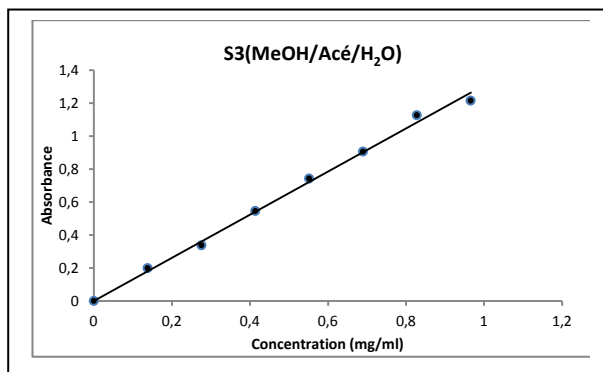




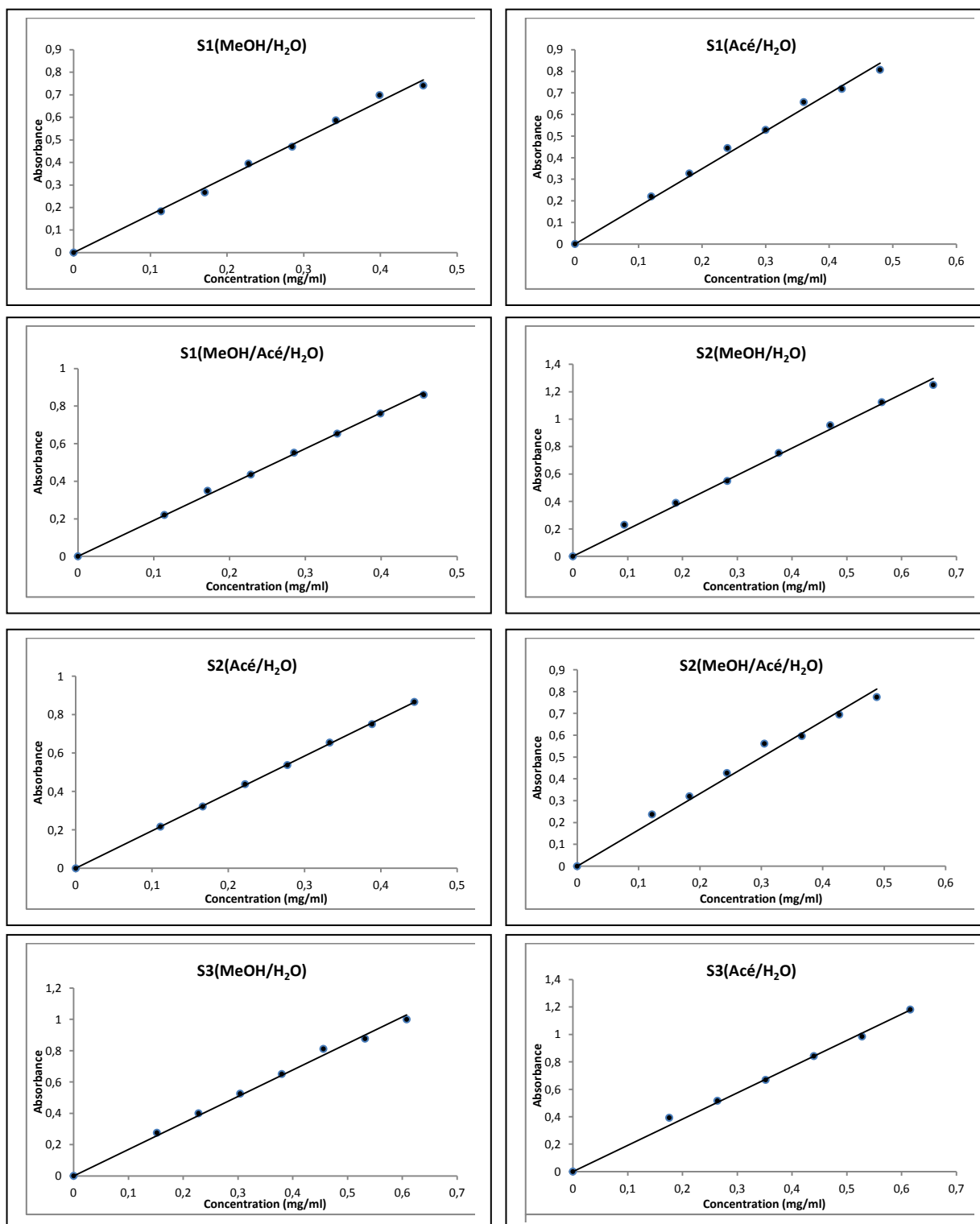


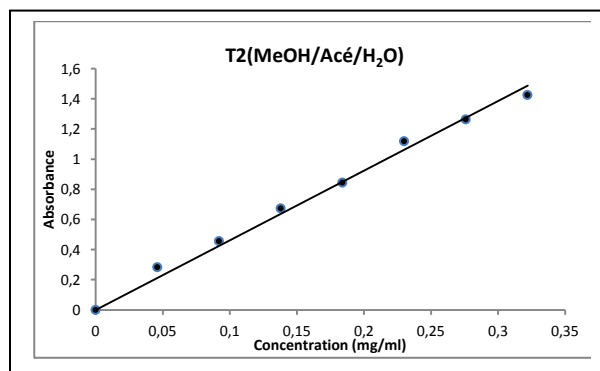
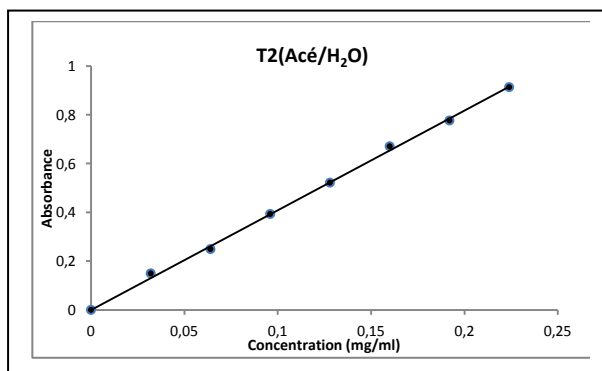
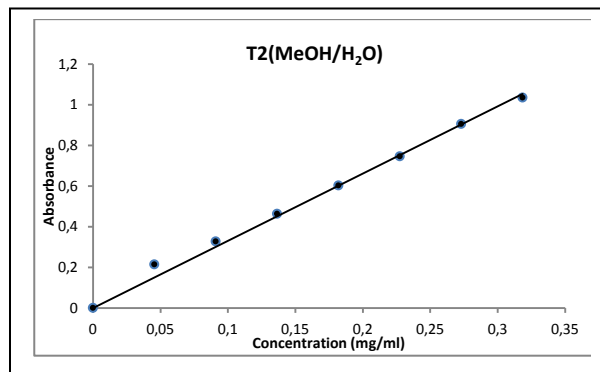
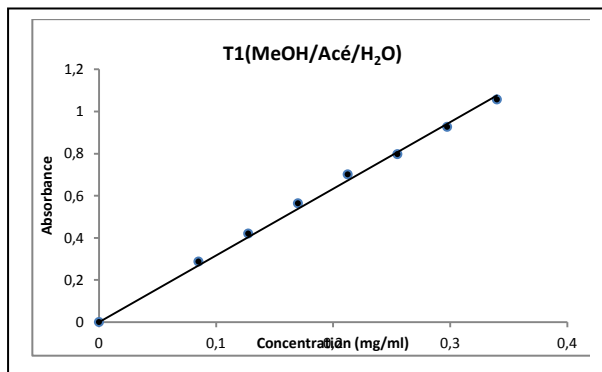
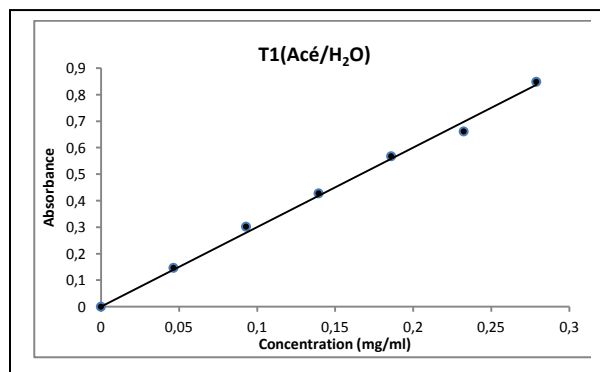
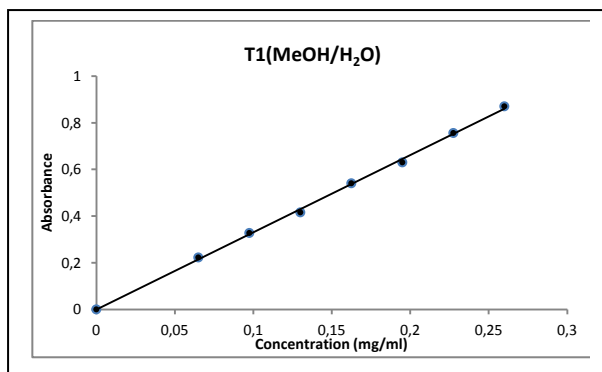
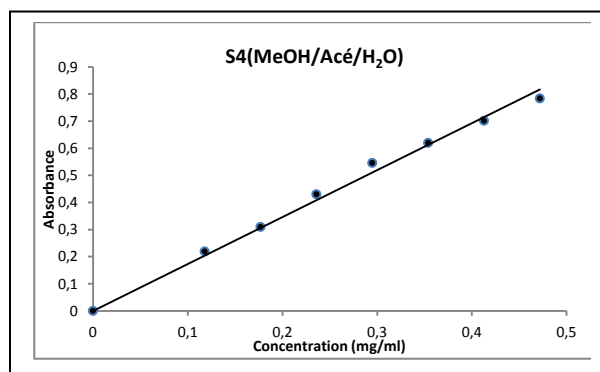
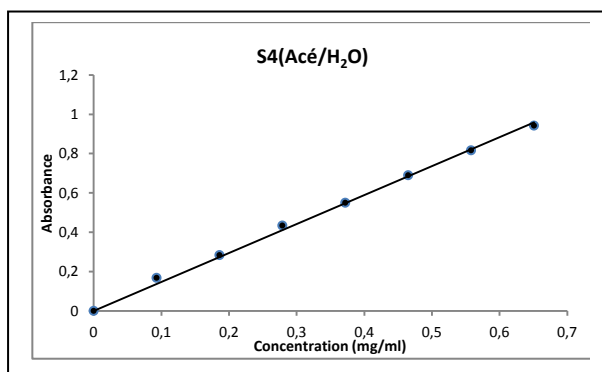
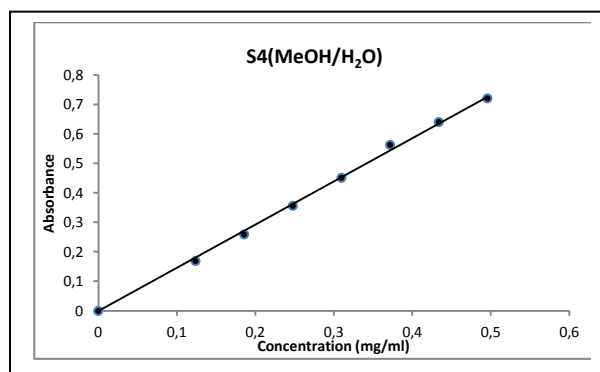
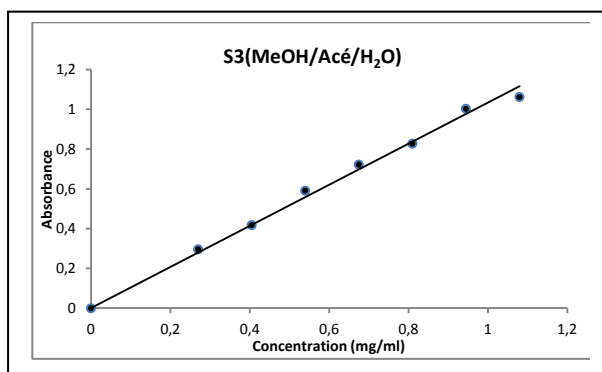
## Annexe XII : Courbes Molybdate-Phosphate extraits phénoliques





## Annexe XIII: Courbes CUPRAC extraits phénoliques





## Annexe XIV: Courbes FRAP extraits phénoliques

