الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel -

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Moléculaire et Cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : **Biochimie**

Thème

Activité antioxydante de *Thymus vulgaris* L., *Cynoglossum creticum* Mill. et d'*Arum italicum* Mill. de la wilaya de Jijel (étude *in vitro*)

Membres de Jury :

Présidente : Dr. Medouri A.

Examinatrice : Mme Hireche S.

Encadreur : Mme Rezzagui A.

Présenté par :

* Boukerika Samira

* Boumimez Sabah

* Hariti Souaâd

Année universitaire : 2018 - 2019

Numéro d'ordre :……..

بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciements

*Avant tout, nous remercions ''**ALLAH**'' le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience et la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur **Mme REZZAGUI Abir** qui a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.*

*Nous exprimons nos estimes et vifs remerciements aux honorables membres de jury : **Mme HIRECHE Saliha** et **Dr. MEDOURI Asma** pour avoir accepté d'examiner et de présider ce modeste travail, qu'elles soient assurées de nos profonds respects et de notre sincère reconnaissance.*

*Nous tenons à remercier **Mme Houria** et **Mme Samira** ainsi que toute l'équipe du laboratoire de Biochimie pour leur gentillesse, aide et disponibilité tout le long de notre travail et surtout pour leur patience et leurs conseils. Merci pour tout.*

Nous tenons à remercier tous les enseignants du département de la biologie moléculaire et cellulaire.

Une pensée particulière pour l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude et à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici notre sincère et profonde gratitude.

Enfin nous nous remercions gracieusement tous nos collègues de la promotion 2018-2019 et nous leur souhaitons beaucoup de réussite.

Merci

Dédicaces

*Avant tout, nous remercions **Allah** tout puissant qui nous avons donné le courage la force la volonté afin de pouvoir accomplir ce travail.*

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude.

A mes très chers parents « Ali et Khadidja », que j'admire beaucoup, qui m'ont toujours aidés dans ma vie et qui n'ont cessés de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les garde en bonne santé.

A mes adorable frères et sœurs pour leurs tendresses et leurs permanentes présences à mes côtés.

À tous mes amies et surtout mon trinôme Sabah et Souaâd qui sont partagées avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

A tous mes collègues de la promotion Biochimie 2018 – 2019.

Je remercie toute les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Samira

Dédicaces

*Avant tout, nous remercions **Allah** tout puissant qui nous avons donné le courage la force la volonté afin de pouvoir accomplir ce travail.*

Je dédie ce modeste travail à mon très cher père Mouloud pour ses précieux conseils, ses grands sacrifices pour ma réussite et assurer les bonnes conditions de vie.

A ma très chère mère HANTIT Khadidja à celle que je dois tout, qui a sacrifié tout pour moi, sa santé, son temps, sa vie juste pour ma réussite, que ALLAH vous bénisse, vous apporte santé et vous garde pour nous.

A mes chères sœurs « Adila », « Nassima », « Nadhira», « Ryma» et surtout « Imane».

A mes chers frères « Nono», « Dahaman», « Farid» et « Riad ».

A tous mes amies et surtout mes chère trinôme Samira et Souaâd.

A tous mes collègues de la promotion Biochimie 2018 – 2019.

Enfin à tous ceux que j'aime.

Sabah

Dédicaces

*À l'aide d'**Allah**, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail*

que je dédie :

À mes très chers parents en témoignage de ma reconnaissance

pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long

*de mes études. Qu'**Allah** leurs prête santé*

À mes frères : Fatih, Mohammed El Amine et surtout mon petit prince

Mohammed El chérif

À ma très chère sœur : Leyla

en témoignage de mon affection et ma reconnaissance pour

leurs encouragements

À la mémoire de ma grand-mère

À mon trinôme Samira et Sabah qui sont partagées avec moi les

moments difficiles pour réaliser ce travail.

À tous mes amis et collègues en témoignage de mes sentiments les meilleurs

À tout le groupe de ma promotion

À tous ceux que j'aime, sans lesquels tout ceci n'aurait aucun

sens….

Souaâd

Résumé

Les plantes médicinales présentent une source importante des différents antioxydants qui peuvent minimiser les effets néfastes des radicaux libres sur l'organisme humain. La présente étude est réalisée dans le but de quantifier les composés phénoliques et d'évaluer les propriétés antioxydantes des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et les tubercules d'*Arum italicum*. L'extrait TE semble être le plus riche en polyphénols totaux (89.70 ± 2.90 mg EAG/g) et en tannins hydrolysables (107.20 ± 1.60 mg EAT/g) suivit de TA, CE, CA, AE et AA. Tous les extraits ont révélé un effet scavenger variable envers les radicaux libres ($ABTS^{+\bullet}$ et $OH^{\bullet}$), dont l'IC_{50} varie entre 11.23 ± 1.82 µg/ml et 48.86 ± 1.92 µg/ml pour le radical $ABTS^{+\bullet}$ et 24.21 ± 0.33 µg/ml et 67.02± 1.83 µg/ml pour le radical $OH^{\bullet}$, à l'exception des extraits d'*A. italicum* où l'effet anti-radicalaire parait très faible. Le meilleur pouvoir réducteur est enregistré pour l'extrait TA (EC_{50} = 50.28 ± 0.93 µg/ml) alors que le plus faible est obtenu par l'extrait AA (EC_{50} = 400.75 mg ± 54.38 µg/ml). L'inhibition du blanchiment du β-carotène est relativement faible, dont le pourcentage d'inhibition est compris entre 56.51 ± 2.11 % (TE) et 15.49 ± 0.90 % (AA). En effet, ces plantes peuvent être considérées comme une importante source d'antioxydants naturels qui peuvent assurer la neutralisation des radicaux libres et par conséquence la prévention de diverses maladies.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum*, *Arum italicum*, polyphénols, tannins hydrolysables, flavonoïdes, activité antioxydante, $ABTS^{+\bullet}$, $OH^{\bullet}$, pouvoir réducteur, β-carotène.

ملخص

تعتبر النباتات الطبية من أهم مصادر مضادات الأكسدة والتي بإمكانها أن تمنع الآثار الضارة للجذور الحرة على جسم الإنسان بصفة طبيعية وآمنة. أجريت هذه الدراسة بهدف قياس محتوى المركبات الفينولية وتقييم الخاصية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية وكذا الإيثانولية لأوراق *Thymus vulgaris*، *Cynoglossum creticum* ودرنات *Arum italicum*. وجدنا أن المستخلص TE هو الأكثر ثراء من ناحية عديدات الفينول (89.70 ± 2.90 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من المستخلص) والتانينات (107.20 ± 1.60 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من المستخلص) يليه AE، CA ، CE، TA وAA. أبدت جميع المستخلصات تأثيرا نسبيا في ازاحة جذري $ABTS^{+\bullet}$ و$OH^{\bullet}$ حيث تراوحت قيم IC_{50} بين 11.23 ± 1.82 ميكروغرام/مل و 343.2 ± 7.29 ميكروغرام/مل بالنسبة لجذر$ABTS^{+\bullet}$، وبين 24.21 ± 0.33 ميكروغرام/مل و143.43 ± 5.02 ميكروغرام/مل بالنسبة لجذر$OH^{\bullet}$. من ناحية أخرى، تم تسجيل أفضل قدرة إرجاعية للحديد بواسطة TA حيث كانت قيمة الـ EC_{50} 50.28 ± 0.93 ميكروغرام/مل بينما بلغت أضعف قيمة 400.75 ± 54.38 ميكروغرام/مل بالنسبة لـ AA. أما فيما يخص تثبيط إبيضاض جزيئات الـ β-carotène، فقد لوحظت أعلى قدرة باستعمال مستخلص TE بنسبة تثبيط قدرت ب 56.51 ± 2.11 % بينما اخفض قيمة تثبيطية تم تسجيلها لمستخلص AA بنسبة 15.49 ± 0.90 %. واستنادا إلى هذه النتائج، يمكننا اعتبار هذه النباتات مصدرا معقولا لمضادات الأكسدة الطبيعية للوقاية من الآثار الجانبية للجذور الحرة والأمراض المختلفة المترتبة عنها.

الكلمات المفتاحية : *Thymus vulgaris*، *Cynoglossum creticum*، *Arum italicum*، عديدات الفينول، التانينات، الفلافونويدات، النشاط مضاد للأكسدة، β-carotène، قدرة إرجاعية، $ABTS^{+\bullet}$، $OH^{\bullet}$.

Abstract

Medicinal plants are an important source of antioxidants that can inhibit the harmful effects of free radicals on the human body. This study was undertaken to quantify the phenolic content and to evaluate the antioxidant properties of aqueous and ethanolic extracts from the leaves of *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* and *Arum italicum* tubers. TE extract contain the highest amount of polyphenols (89.70 ± 2.90 mg EAG/g extract) and hydrolysable tannins (107.20 ± 1.60 mg EAT/g extract) followed by TA, CE, CA, AE and AA. All extracts revealed a relative scavenger effect against $ABTS+^{\bullet}$ and $OH^{\bullet}$ free radicals, with IC_{50} ranging from 11.23 ± 1.82 µg/ml to 343.2 ± 7.29 µg/ml for the $ABTS^{+\bullet}$ radical and 24.21 ± 0.33 µg/ml and 143.43± 5.02 µg/ml for $OH^{\bullet}$ radical. The best reducing power was recorded for TA extract with an EC_{50} equal to 50.28 ± 0.93 µg/ml and the lowest for AA extract with EC_{50} = 400.75 ± 54.38 µg/ml. The highest inhibition of β-carotene bleaching was noted with TE extract (56.51 ± 2.11%) whereas the lowest was marked by the AA extract with (15.49 ± 0.90 %). Indeed, these plants can be considered as an excellent source of natural antioxidants for the prevention of various diseases.

Key words: *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum*, *Arum italicum*, polyphenols, hydrolysable tannins, flavonoids, antioxidant activity, $ABTS+^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$, reducing power, β-carotene.

Liste des abréviations

***A. italicum* Mill :** *Arum italicum* Mill.

AA : Extrait aqueux d'*Arum italicum.*

ABTS : 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid).

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AE : Extrait éthanolique d'*Arum italicum.*

AG : acide gallique.

BHT : Hydroxy toluéne butylé.

***C. creticum* Mill :** *Cynoglossum creticum* Mill.

CA : Extrait aqueux de *Cynoglossum creticum.*

CAT : Catalase.

CE : Extrait éthanolique de *Cynoglossum creticum.*

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazyl.

EAG : équivalent acide gallique.

EAT : équivalent d'acide tannique.

EC_{50} : concentration effectrice de 50%.

ECA : équivalent catechin.

EQ : équivalent quercetine.

ER : équivalent rutin.

GPx : Glutathion Peroxydase.

GR : Glutathion Réductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion Oxydé.

IC_{50} : concentration inhibitrice de 50%.

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NOS : NO synthases.

pH : Potentiel d'hydrogène.

RNS : Espèces Réactives de Nitrogène.

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène.

SOD : Superoxyde Dismutase.

***T. vulgaris* L :** *Thymus vulgaris* L.

TA : Extrait aqueux de *Thymus vulgaris*.

TCA : acide trichloracétique.

TCE : teneur en composés extractibles.

TE : Extrait éthanolique de *Thymus vulgaris*.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Les origines des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie	**04**
2	Les origines du stress oxydant	**06**
3	Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène	**06**
4	Acides hydroxybenzoique (A) et hydroxycinnamique (B)	**11**
5	Les principales familles des flavonoïdes	**11**
6	Structure de tannins hydrolysables (A) et de tannins condensés (B)	**12**
7	Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L.	**14**
8	Aspects morphologiques de *Cynoglossum creticum* Mill.	**15**
9	Aspects morphologiques d'*Arum italicum* Mill.	**16**
10	Effet piégeur des différentes concentrations des extraits de *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C) et du BHT envers le radical $ABTS^{+\bullet}$	**29**
11	Activité anti-radicalaire des extraits de *T. vulgaris*, *C. creticum*, *A. italicum* et du BHT contre le radical $ABTS^{+\bullet}$ exprimés en IC_{50}	**30**
12	Pouvoir réducteur des différentes concentrations des extraits de *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C) et du BHT	**32**
13	Pouvoir réducteur des extraits de *T. vulgaris*, *C. creticum*, *A. italicum* et de BHT exprimé en EC_{50}	**33**
14	Activité antioxydante des différents extraits *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C), du BHT, de l'eau et de l'éthanol dans le test du blanchissement de β-carotène	**35**
15	Pourcentage d'inhibition du blanchissement de β-carotène après 48 heures par les différents extraits, le BHT et les contrôles négatifs	**36**
16	Effet piégeur des différentes concentrations des extraits *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C) et du BHT envers le radical hydroxyle	**38**
17	Activité anti-radicalaire des déférents extraits et de la vitamine C envers le radical hydroxyle exprimés en IC_{50}	**39**

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Les deux classes des espèces réactives	**03**
02	Les principaux ROS et RNS générées dans les systèmes biologiques	**05**
03	Rendement d'extraction de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et d'*Arum italicum*	**25**
04	Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins hydrolysables dans les différents extraits de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et d'*Arum italicum*	**26**

Sommaire

Résumés
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Sommaire
Introduction générale 1

Analyse bibliographique

1. Stress oxydant 3
   1.1. Classes des espèces réactives 3
   1.2. Espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène 4
   1.3. Sources des ROS et RNS 5
   1.4. Conséquences biochimiques du stress oxydant 6
   1.5. Pathologies liées au stress oxydant 7
2. Systèmes de défense antioxydante 7
   2.1. Systèmes enzymatiques 7
   2.2. Systèmes non enzymatiques 8
3. Composés phénoliques 10
   3.1. Principales classes des polyphénols 10
   3.2. Propriétés biologiques des polyphénols 12
   3.3. Activité antioxydante des polyphénols 13
4. Plantes étudiées 13
   4.1. *Thymus vulgaris* L. 13
   4.2. *Cynoglossum creticum* Mill 14
   4.3. *Arum italicum* Mill. 16

Matériel et méthodes

1. Matériel 19
   1.1. Matériel végétal 19
   1.2. Produits chimiques 19
2. Méthodes 20
   2.1. Extraction 20
      2.1.1. Préparation de l'extrait éthanolique 20
      2.1.2. Préparation de l'extrait aqueux 20

2.2. Dosage des composés phénoliques 20
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux 20
2.2.2. Dosage des flavonoïdes 21
2.2.3. Dosage des tanins hydrolysables 21
2.3. Évaluation de l'activité antioxydante 21
2.3.1. Piégeage du radical cationique $ABTS^{+\bullet}$ 22
2.3.2. Pouvoir réducteur 22
2.3.3. Blanchissement du β-carotène 22
2.3.4. Piégeage du radical hydroxyle 23
2.4. Analyses statistiques 23

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction 25
2. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables 26
3. Activité antioxydante de *T. vulgaris*, *C. creticum* et d'*A. italicum* 28
3.1. Effet piégeur envers le radical $ABTS^{+\bullet}$ 28
3.2. Pouvoir réducteur du Fer 31
3.3. Blanchissement de β-carotène 33
3.4. Effet piégeur du radical hydroxyle 37
Conclusion générale 40
Références bibliographiques 43
Annexes

Introduction générale

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre les systèmes oxydants et antioxydants, en faveur des premières. Il est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Marreiro et *al.*, 2017). Ainsi, pour éviter les conséquences du stress oxydant, il est obligatoire de rétablir l'équilibre oxydant-antioxydant de l'organisme par l'utilisation des antioxydants qui peuvent être des substances naturellement produites par le corps (endogènes) ou bien apportées par l'alimentation (exogènes). Exogènes ou endogènes, les antioxydants ont un effet protecteur ; ils retardent, empêchent ou réparent les dégâts oxydatifs (Halliwell et Gutteridge, 2000).

D'après les dernières estimations, 80 % de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle par l'utilisation des plantes médicinales. Elles constituent une source naturelle des molécules bioactives pouvant participer dans la recherche de nouveaux antioxydants actifs et substituer les antioxydants synthétiques possédant des effets néfastes sur la santé du consommateur (Eddouks et *al*., 2007 ; Gião et *al.*, 2010).

Récemment, d'importants efforts font l'objet de nombreuses recherches en vue d'une exploitation des métabolites secondaires en général et des polyphénols en particulier, issus des plantes médicinales (Middleton et *al.*, 2000 ; Banerjee et *al.*, 2019). Les polyphénols comprennent de nombreuses classes de composés allant des acides phénoliques simples aux tannins complexes, comme ils sont caractérisés par une faible toxicité et de nombreuses activités biologiques, notamment l'activité antioxydante (Queen et Tollefsbol, 2010).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants naturels en évaluant les propriétés antioxydantes de trois plantes médicinales (*Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et *Arum italicum*), dont le choix de ces plantes s'est basé sur leurs utilisations fréquentes dans nos traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national. Pour cela, nous nous sommes intéressées à la préparation des extraits aqueux et éthanoliques des plantes étudiées, à la détermination de leur teneur en composés phénoliques et à l'évaluation de leur activité antioxydante *in vitro* par l'utilisation de plusieurs tests complémentaires les uns aux autres.

1. Stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des espèces réactives et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (Browne et *al*., 2008 ; Sayre et *al*., 2008 ; Power et *al*., 2010). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants. L'équilibre ou l'homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent donc vulnérables aux attaques par les espèces réactives (Kirschvink et *al.*, 2008).

1.1. Classes des espèces réactives

1.1.1. Espèces radicalaires

Un radical libre est une espèce chimique (atome, molécule ou ion) qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés (Tableau 01), ce qui la rend chimiquement très réactive (Leverve, 2009). Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule pour devenir plus stable, conduisant ainsi à une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée devienne à son tour radicalaire (Afonso et *al.*, 2007).

1.1.2. Espèces non radicalaires

Ce sont des espèces non radicalaires qui acceptent deux électrons pour donner des produits non radicalaires (Tableau 01). Ils peuvent être convertis en radicaux libres par réaction avec un métal de transition (Winterbourn, 2015).

Tableau 01. Les deux classes des espèces réactives (Rao et *al.*, 2011).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	**Symbole**	**Nom**	**Symbole**
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	$NO^{\bullet}$	Oxygène singulet	$^1O_2$
Radical alkoxyle	$RO^{\bullet}$	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyle	$ROO^{\bullet}$	Peroxynitrite	$ONOO^-$

1.2. Espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives : les espèces réactives de l'oxygène ROS et les espèces réactives d'azote RNS (Wu et *al.*, 2013).

1.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des dérivés de l'oxygène où certains électrons se trouvent dans un état énergétique excité et très réactionnels (Tableau 02). Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance dans le métabolisme aérobie (Valko et *al.*, 2007) (Figure 01).

1.2.2. Espèces réactives de l'azote (RNS)

Par analogie avec les espèces réactives de l'oxygène, les métabolites dérivés de l'azote sont nommés espèces réactives de l'azote (Tableau 02) ; il s'agit du monoxyde d'azote $NO^{\bullet}$ et du peroxynitrite $ONOO^{-}$ (Rao, 2004).

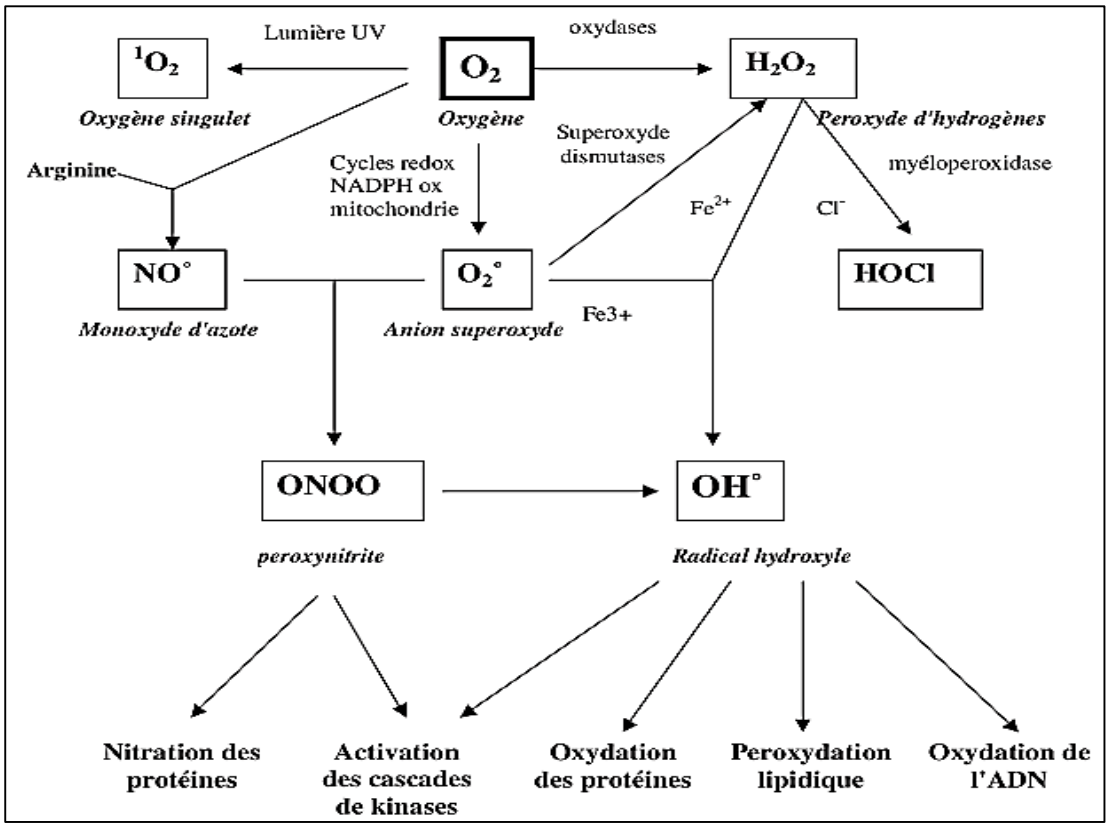


Figure 01. Les origines des différents radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie (Favier, 2003).

Tableau 02. Les principaux ROS et RNS générées dans les systèmes biologiques (Bartosz, 2003 ; Migdal et Serres, 2011). (1) réaction de Fenton, (2) réaction d'Haber Weiss.

Type	Nom	Symbole	Réaction
Espèces réactives de l'oxygène (ROS)	Anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet -}$
	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	$O_2^{\bullet -} + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$
	Radical hydroxyle	$HO^\bullet$	$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^\bullet + OH^- + Fe^{3+}$ (1) $H_2O_2 + O_2^{\bullet -} \rightarrow OH^\bullet + OH^- + O_2$ (2)
	Radical peroxy	ROO^-	$R^\bullet + O_2 \rightarrow RO_2^\bullet$
	Acide hypochlorique	HOCl	$H_2O_2 + Cl^- + H^+ \rightarrow HOCl + H_2O$
Espèces réactives de l'azote (RNS)	Monoxyde d'azote	$NO^\bullet$	O_2 +Arginine +NADPH $\rightarrow NO^\bullet$+ Cittrulline + H_2O + $NADP^+$
	Peroxynitrite	$ONOO^-$	$NO^\bullet + O_2^{\bullet -} \rightarrow ONOO^-$

1.3. Sources des ROS et RNS

Plusieurs organites et compartiments sont des sièges importants pour la production des radicaux libres comme les mitochondries, les lysosomes, les peroxysomes, le réticulum endoplasmique, le plasma, la membrane et autres sites dans le cytosol (Delteil et *al.*, 2012). Les ROS, notamment l'anion superoxyde et le radical hydroxyle, sont aussi produites au cours des différentes réactions enzymatiques catalysées par le NADH oxydases, la xanthine oxydase, le cytochrome P450 et les peroxydases (Drögue, 2002) (Figure 02).

Le monoxyde d'azote est produit au niveau cellulaire à partir de l'arginine et de l'oxygène. Cette réaction est catalysée par une famille d'enzymes : les NO synthases (NOS) (Speckmann et *al.*, 2016).

Plusieurs facteurs exogènes également tel que l'exposition prolongée au soleil, les rayonnements ultra-violets, le mode de vie (tabagisme, alcoolisme, radiations ionisantes, polluants industriels), l'alimentation déséquilibrée (carences en vitamines et oligo-éléments) ou encore les situations cliniques (chirurgie, transplantation) sont à l'origine du stress oxydant en induisant et favorisant la genèse de radicaux libres (Mena et *al.*, 2009 ; Chen et *al.*, 2012) (Figure 02).

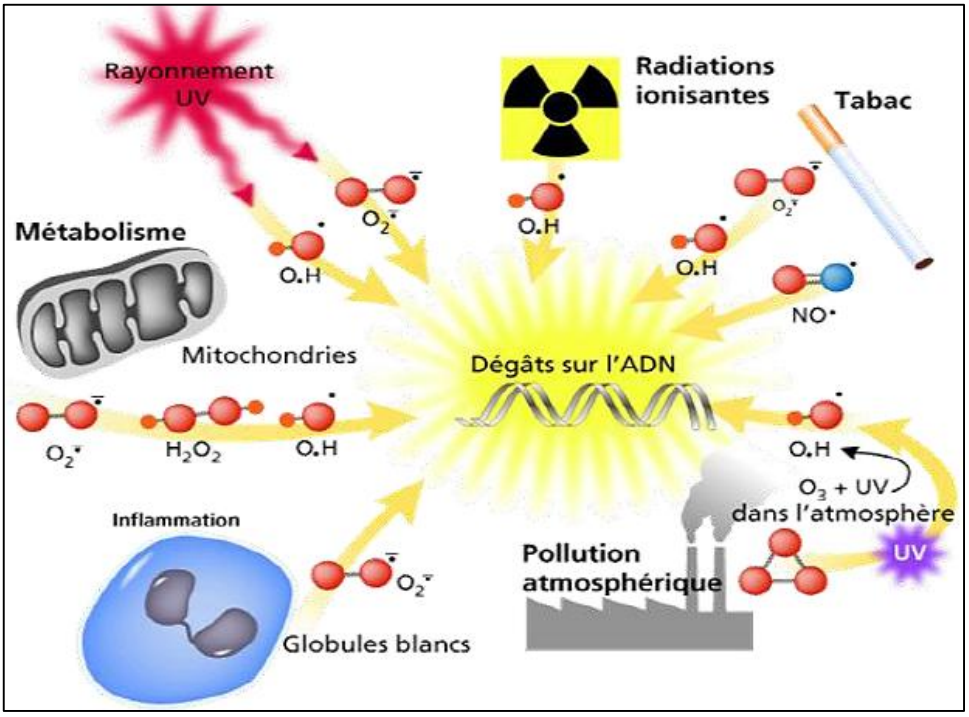


Figure 02. Les origines du stress oxydant (Durackova, 2008).

1.4. Conséquences biochimiques du stress oxydant

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions des molécules biologiques comme l'ADN, les protéines, et les lipides (Figure 03). Cela conduit à des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Loft et *al.*, 2008).

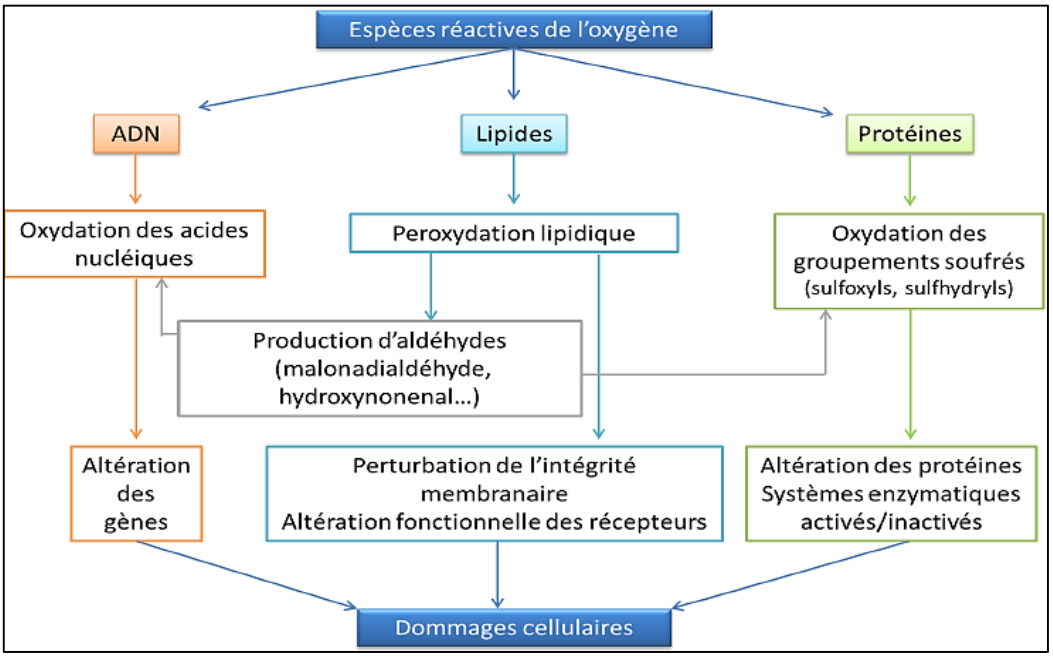


Figure 03. Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Loft et *al.*, 2008).

1.5. Pathologies liées au stress oxydant

Le stress oxydatif est impliqué dans un large spectre de maladies, qui ont un impact énorme sur la santé des populations. Il semble être le facteur déclenchant de plusieurs processus pathologiques, tel que le cancer (Favier, 2006), les maladies neurodégénératives (Guillet-pichon et Verny, 2016), les complications immunitaires et le diabète (Mialocq et *al.*, 2001 ; Hokayem et *al.*, 2012).

Par ailleurs, il représente un facteur important dans la genèse des complications de la grossesse liées aux anomalies placentaires (Jauniaux et Burton, 2016) et le développement des maladies rhumatismales (Afonso et *al.*, 2007). Il est intéressant également de mentionner que l'incidence d'apparition de ces maladies augmente avec le vieillissement au cours duquel la défense antioxydante diminue, alors que la production des radicaux libres augmente par un dérèglement progressif du fonctionnement mitochondrial (Guillet-pichon et Verny, 2016).

2. Systèmes de défense antioxydante

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent, à faible concentration, donner des électrons et/ou des atomes d'hydrogène aux oxydants (Siti et *al*., 2015). Ils ont pour rôle d'empêcher la formation des radicaux libres, de permettre leur élimination ou bien de réparer les dégâts causés par ces espèces (Halliwell et *al.*, 1990). Les antioxydants peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (Pieme et *al.*, 2017).

2.1. Systèmes enzymatiques

Les protéines enzymatiques antioxydants constituent la première barrière de cette défense antioxydante. Elle est constituée de trois métalloenzymes essentielles : les superoxydes dismutases, la catalase et les glutathions peroxydases. Leurs activités et leurs localisations dans la cellule sont complémentaires et assurent l'élimination des anions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène dans tous les compartiments intracellulaires (Cano et *al*., 2007).

2.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Les superoxydes dismutases, première ligne de protection contre les ROS, sont présentes dans presque toutes les cellules aérobies et dans les liquides extracellulaires (Kabel, 2014). Les SOD catalysent la conversion de l'anion superoxyde en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène (Belge, 2016) :

$$O_2^{\bullet -} + 2\,H \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Chez les mammifères, cette famille comporte trois isoformes : la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Cu/Zn-SOD extracellulaire et la Mn-SOD mitochondriale (Afonso et *al*., 2007).

2.1.2. Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme intracellulaire, retrouvée dans les peroxysomes des hépatocytes, des érythrocytes et des cellules rénales (Castaldo et *al.*, 2016). Chaque molécule de catalase peut convertir environ 6 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire chaque minute (Valko et *al.*, 2006). Elle catalyse donc la réaction de détoxification de H_2O_2 (Starlin et Gopalakrishnan, 2013) :

$$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$$

2.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase constitue une famille d'enzymes qui est présente dans les liquides extracellulaires, du cytoplasme et des membranes cellulaires (Valko et *al.*, 2006). Elle catalyse la réaction de transformation des peroxydes d'hydrogène et des lipides (ROOH) en eau et alcool (ROH). Lors de cette réaction deux molécules de glutathion (GSH) se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (Omodanisi et *al.*, 2017) :

$$2\ H_2O_2 + 2\ GSH \rightarrow 2\ H_2O + GSSG$$

$$ROOH + 2\ GSH \rightarrow ROH + GSSG + H_2O$$

2.1.4. Glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase est une oxydoréductase NADPH-dépendant localisée dans le cytosol et les mitochondries. Elle catalyse la conversion du glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH) (Csiszár et *al.*, 2016) :

$$GSSG + NADPH \rightarrow 2\ GSH + NADP^+$$

2.2. Systèmes non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation, donc on peut les divisées en antioxydants endogènes et exogènes.

2.2.1. Antioxydants endogènes

A- Glutathion (GSH /GSSH)

Le glutathion est le principal antioxydant non enzymatique intracellulaire (Valko et Omova, 2011). Il participe directement à la neutralisation des ROS par la réduction du peroxyde d'hydrogène grâce à la réaction catalysée par la GPx (Rajendran et *al.*, 2014). Il permet aussi la régénération de composés aux propriétés antioxydantes comme les vitamines E et C (Lu, 2013).

B- Acide urique

C'est le produit du catabolisme des purines comme la xanthine et l'hypoxanthine (Villasante et *al.*, 2010). Il réagit avec plusieurs espèces réactives aux potentialités oxydantes fortes comme $ROO^{\bullet}$, $HO^{\bullet}$, $ONOO^{-}$, $NO_2^{\bullet}$ et l'oxygène singulet, ce qui entraine la formation du radical urate, qui peut être alors réduit par l'acide ascorbique (Stocker et Keaney, 2004).

C- Bilirubine

La bilirubine est le produit final de la dégradation de l'hème de plusieurs protéines hémiques. Ce composé liposoluble est capable de piéger plusieurs espèces réactives tel que le $ONOO^{-}$et l'$^{1}O_2$ (Powers et Jackson, 2008), protégeant ainsi l'albumine et les membranes cellulaires contre les attaques radicalaires (Algeciras-Schimnich et *al.*, 2007).

D- Coenzyme Q10

Le coenzyme Q10 est un transporteur d'électrons présent dans la chaine oxydative mitochondriale, les membranes cellulaires, le plasma et les lipoprotéines. Il est capable d'inhibier la peroxydation lipidique (Powers et Jackson, 2008) et d'assurer un recyclage de la vitamine E (Canavy et *al.*, 2014). Le coenzyme Q10 se trouve dans les noix, les sardines, les grains complets et certains légumes (Roberfroid et *al.*, 2008).

2.2.2. Antioxydants exogènes

A- Vitamine C et E

La vitamine C ou l'acide ascorbique est considérée comme le principal antioxydant hydrosoluble (Spector et Johanson, 2014). Elle fournit la protection contre le stress oxydatif en agissant comme un boueur des ROS, directement ou indirectement en recyclant l'antioxydant liposoluble, la vitamine E (Kirkwood et *al.*, 2012). Celle-ci est un antioxydant liposoluble localisé au niveau membranaire et dans les lipoprotéines (Grimm et *al.*, 2016). Elle réagit avec les radicaux peroxyles ce qui permet l'inhibition de la peroxydation lipidique (Duncan et Suzuki, 2017).

B- Caroténoïdes

Représentés par la β-carotène (provitamine A), les caroténoïdes sont capables de piéger les radicaux hydroxyles, peroxyles, d'inhiber la peroxydation lipidique et de neutraliser l'oxygène singulet (Beaudeux et Geneviève, 2011). En fonction de la concentration en caroténoïdes, leurs effets sont différents : à faible concentration, ils ont une action antioxydante, alors qu'à plus forte concentration, ils se comportent comme des agents pro-oxydants (Valko et *al*., 2006).

C- Oligoéléments

Le cuivre, le manganèse, le sélénium, le zinc et le fer sont des éléments-trace, jouent le rôle des cofacteurs indispensables pour les réactions métaboliques d'enzymes antioxydants (Roussel, 2009), afin de maintenir leur activité catalytique et protéger les cellules contre des dégâts oxydatifs (Marreiro et *al.*, 2017). Cependant, certains oligo-éléments, notamment le fer et le cuivre, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme, ils peuvent avoir une action pro-oxydante (Laliberte et Labbe, 2008).

D- Métabolites secondaires

Les plantes supérieures sont le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse des substances plus divers, appelée « métabolites secondaires » (Makhloufi, 2013). Les métabolites secondaires sont représentés par les polyphénols, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes. Ces molécules, notamment les polyphénols, possèdent une large gamme d'activité biologique et pharmacologique : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse (Ali et *al.*, 2001 ; Epifano et *al.*, 2007 ; Li et *al.*, 2007).

3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques (polyphénols) forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels issus tous du métabolisme secondaire et très répandues dans le règne végétal (D'alessandro et *al.*, 2012). Ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Ganesan et Xu, 2017), comme ils contribuent à la couleur et au goût des fruits et des végétaux (Ky et *al.*, 2016).

Leur élément structural fondamental est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel se lie au moins un groupe hydroxyle (Ky et *al.*, 2016). La structure des polyphénols ainsi que leurs tailles varient grandement, allant de petits phénols simples jusqu'aux tannins complexes de haut poids moléculaire (Auger et Schini-Kerth, 2014).

3.1. Principales classes des polyphénols

3.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Yuan et *al.*, 2019). Ils représentent environ un tiers de des polyphénols (Sharma et *al.*, 2015). Ils ont des effets antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et chélateurs (Mandale et *al.*, 2010 ; Yuan et *al.*, 2019). Ils existent sous deux formes (Figure 04) : dérivés de l'acide benzoïque et dérivés de l'acide cinnamique (Zhang et *al.*, 2019).

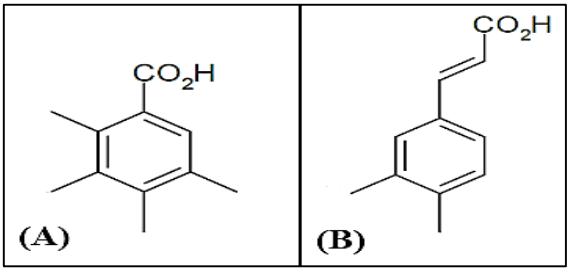


Figure 04. Acides hydroxybenzoique (A) et hydroxycinnamique (B) (Chandrasekara, 2019).

3.1.2. Flavonoïdes

Chez les plantes, plus de 6000 variétés de flavonoïdes ont été identifiées et regroupés en plusieurs familles (Figure 05). Ils sont retrouvés dans les fruits et légumes sous forme glycosylée, ce qui les rend plus hydrosolubles (Seleem et *al.*, 2017). Ils jouent de nombreux rôles chez les plantes : défense contre les prédateurs, attraction des pollinisateurs, pigmentation des organes, croissance et protection contre les ultra-violets (Subsamanian et *al.*, 2007 ; Yang et *al.*, 2008). Ces composés sont toujours tricycliques : deux cycles benzoïques A et B et un pyrane C central (Sankari et *al.*, 2014).

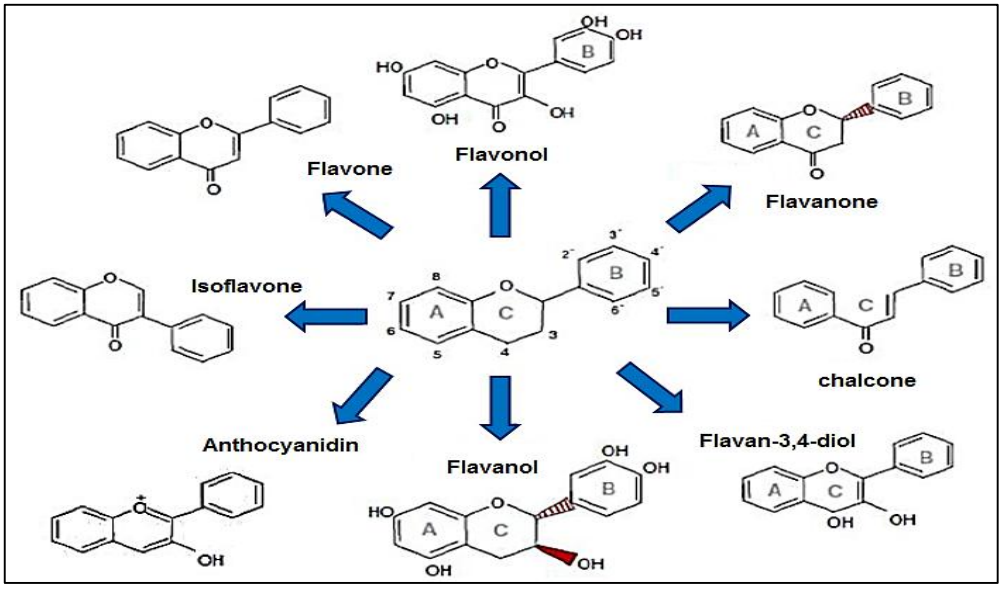


Figure 05. Les principales familles des flavonoïdes (Fraga et Oteiza, 2011).

3.1.3. Tannins

Les tannins sont des polyphénols hydrosolubles, de poids moléculaire varie entre 500 et 3000 Da, ayant en commun la propriété de tanner la peau (Le Bourvellec et Renard, 2019). Ils se complexent généralement avec les protéines pour former un précipité (Ky et *al.*, 2016). Ces composés existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines (Redondo et *al.*,2014).

Ils peuvent avoir plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, antifongique, antitumorale et antivirale (Omnes et *al.*, 2017 ; Amarowicz et Janiak, 2019). Sur le plan structural, les tannins sont divisés en tannins hydrolysables et tannins condensés (Figure 06).

A- Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénoliques. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique en oses et en acides phénoliques (Amarowicz et Janiak, 2019).

B- Tannins condensés

Les tannins condensés sont des polymères flavanoliques complexes, résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-ols et/ou les flavan-3,4-diols (Watrelot et *al.*, 2017 ; Soares et *al.*, 2018). Ils ne renferment pas de sucres dans leurs molécules et ne sont hydrolysés seulement qu'en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation (Paris et Hurabielle, 1981 ; Atefeibu, 2002).

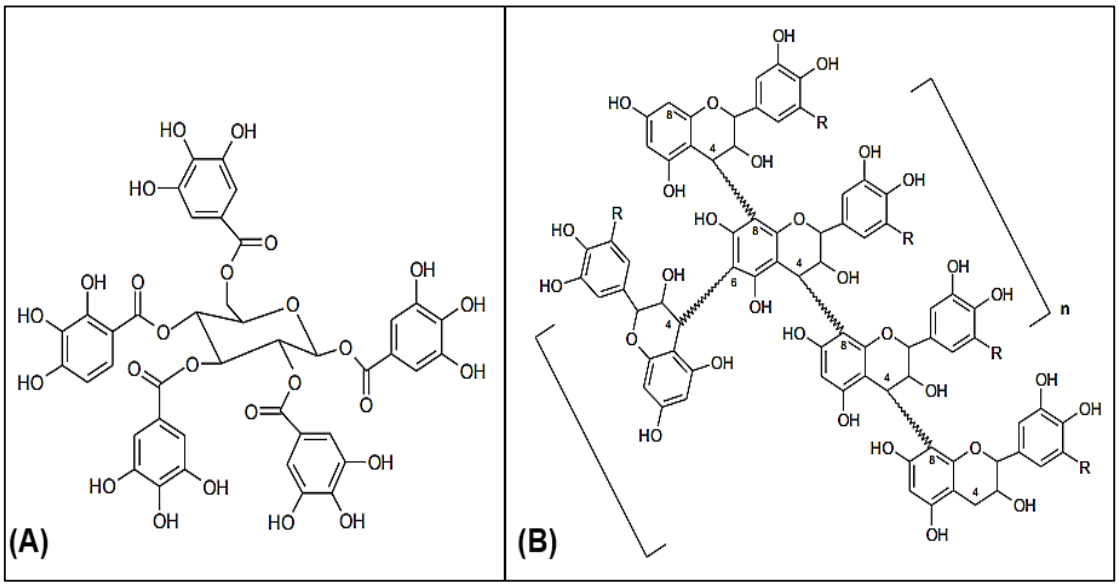


Figure 06. Structure de tannins hydrolysables (A) et de tannins condensés (B) (Amarowicz et Janiak, 2019).

3.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique. Ces composés montrent des activités anti-inflammatoires, antiathérogènes, analgésiques, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses (Ali et *al.*, 2007), antiallergiques, vasodilatatrices (Falleh et *al.*, 2008 ; Hodgson et Croft, 2010), antiulcéreuses (Gurbuz et *al.*, 2009), antidiabétiques, ostéogènes (Maurya et *al.*, 2009) et antioxydantes par la neutralisation et le piégeage des radicaux libres (Perron et *al.*, 2011).

3.3. Activité antioxydante des polyphénols

Les composés phénoliques occupent une grande place dans la recherche scientifique grâce à leurs propriétés antioxydantes efficaces et leurs effets bénéfiques. Cette activité antioxydante est due à leur capacité à piéger les radicaux libres (Balasundram et *al*., 2006) par la chélation des métaux (le fer et le cuivre) initiateurs des réactions radicalaires (Solari-Godiño et *al.*, 2017), l'inhibition des enzymes responsables à la génération des radicaux libres (Van Acker et *al*., 1996) ou par la surexpression et la protection des systèmes de défenses antioxydants (Kumar et Pandey, 2013).

4. Plantes étudiées

Durant des siècles, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour réduire leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures (Benkhnigue et *al.*, 2011). En effet, il existe 500000 espèces de plantes sur la terre, parmi lesquelles, un nombre limité est considéré comme médicinales (Aouinti et *al.*, 2014). Parmi celles nous avant choisi trois plantes pour évaluer leurs activités antioxydantes.

4.1. *Thymus vulgaris* L.

Le mot *Thym* provient du terme latin "*Thymus*" qui signifie "parfumé" (Padrini et Lucheroni, 1996). Dans la flore algérienne, ce genre est représenté par 11 espèces, dont l'espèce la plus connue est *Thymus vulgaris* L. (Balladin et Headley, 1999). Il est localement connu sous le nom "Zaatar" tant qu'en français et en anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre "Thym" et "Thyme" respectivement pour le désigner (Amiot, 2005).

4.1.1. Classification systématique

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus vulgaris* L.

(Morales, 2002)

4.1.2. Description botanique

Thymus vulgaris L. est un arbrisseau aromatique, pouvant atteindre 40 cm d'hauteur, à tiges ramifiées qui portent de petites feuilles persistantes, de petites tailles de couleur verte foncé et qui sont recouvertes de poils et de glandes (Figure 07). Ses petites fleurs sont regroupées en glomérules et leurs couleur varie du blanc au violet dont la floraison a lieu de Juin à Octobre et possèdent un fruit brun clair à brun foncé (Morales, 2002 ; Soto-Mendivil et *al.*, 2006).

Figure 07. Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (Iserin, 2001).

4.1.3. Utilisation en médecine traditionnelle

Thymus vulgaris L. est l'une des plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le monde entier. Ses applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan et *al.*, 2007). En Algérie, la sommité fleurie de *T. vulgaris* L. est utilisée par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : le ballonnement épigastrique, la lenteur à la digestion, l'éructation, la flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et de la bronchite (Benabed et *al.*, 2017). Sa feuille est employée en tant que brancho-spasmolytique, expectorant et antibactérien.

4.1.4. Données phytochimiques

L'huile essentielle de la plante est composée d'une quantité très variable en phénols (20-80%) (Díaz-Maroto et *al.*, 2005), dont les majeurs constituants sont thymol (30-70%) et carvacrol (3-15%) (Kuhn et Winston, 2012). Elle contient également des alcaloïdes, des monoterpènes, des tannins, des saponines, des flavonoïdes, des acides phénoliques (Peter, 2004 ; Singh, 2011 ; Goetz et Ghédira, 2012), l'hydroxyjasmone glucoside (Kitajima et *al.*, 2004), des polysaccharides (Chun et *al.*, 2001) et de la vitamine E (Kulišic et *al.*, 2006).

4.2. *Cynoglossum creticum* Mill

L'espèce *Cynoglossum creticum* est très commune dans le Tell algérien et rare ailleurs. Elle se rencontre sur les sommets arides, dans les lieux incultes et au bord des chemins (Anonyme, 2011). Elle est connu sous le nom de " Cynoglosse de Crète " en français, "Blue hound's tongue" en anglais et par différents noms arabes, tels que Saboun el-arais, Ouden el-arnebe (Anonyme, 2011 ; Bowe et Yatskievych, 2016), comme elle est connu localement à Jijel sous le nom El-chahba (Figure 08).

Figure 08. Aspects morphologiques de *Cynoglossum creticum* Mill.

4.2.1. Classification systématique

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Famille : *Boraginaceae*

Genre : *Cynoglossum*

Espèce : *Cynoglossum creticum*

(Barbier et Mathez, 1973)

4.2.2. Description botanique

Cynoglossum creticum est une plante biannuelle qui atteint jusqu'à 60 cm d'hauteur. Ses tiges sont recouvertes de poils fins. Elle a des feuilles de couleur verte foncée, jusqu'à 20 cm de long et 25-35 mm de large. La fleur, un tube de 10 à 11 mm de long, est rose à bleu. Les graines sont ovales de 6-8 mm de long et leur surface extérieure est couverte d'épines (Anonyme, 2003 ; Bowe et Yatskievych, 2016).

4.2.3. Utilisation en médecine traditionnelle

Les feuilles de *C. creticum* Mill. astringentes étaient utilisées contre les brûlures. Elles traitent également les infections pulmonaires et la tuberculose. Les racines servaient d'expectorant et d'anti-diarrhéique, où leur décoction est utilisée pour soulager les douleurs articulaires (Tiwari, 2008 ; Anonyme, 2011 ; Attard et Pacioni, 2012).

4.3. *Arum italicum* Mill.

Arum italicum Mill. a été décrit pour la première fois en 1768 par Miller. Il pousse dans les endroits ombragés plus ou moins humides (Boyce, 1993). Il est présent en Europe du Sud et de l'Ouest, dans l'Afrique du Nord et en Asie occidentale (Ağalar et *al.*, 2017). Il est connu sous plusieurs noms communs : Arum d'Italie, Gouet d'Italie en français, Italian lords and ladies en anglais (Quattrocchi, 2016), Avqouq en kabyle (Hammiche, 2015) et Eguèrni ou Eyèrni à Jijel.

4.3.1. Classification systématique

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Liliopsida*

Famille : *Araceae*

Genre : *Arum*

Espèce : *Arum italicum*

(UniProt org, 2019)

4.3.2. Description botanique

C'est une plante vivace de 20 à 60 cm d'hauteur, possédant un gros tubercule brun foncé à l'extérieur et blanc à l'intérieur (Figure 09). Cette espèce se caractérise par des feuilles vertes foncées et veinées de blanc jaunâtre (Bruneton, 1996). L'inflorescence est composée d'une grande spathe blanchâtre qui entoure un axe central portant les petites fleurs unisexuées. La période de floraison se prolonge de Mars à Mai. Les fruits sont des baies rouges vifs qui forment une grappe compacte dressée (Bruneton, 1996).

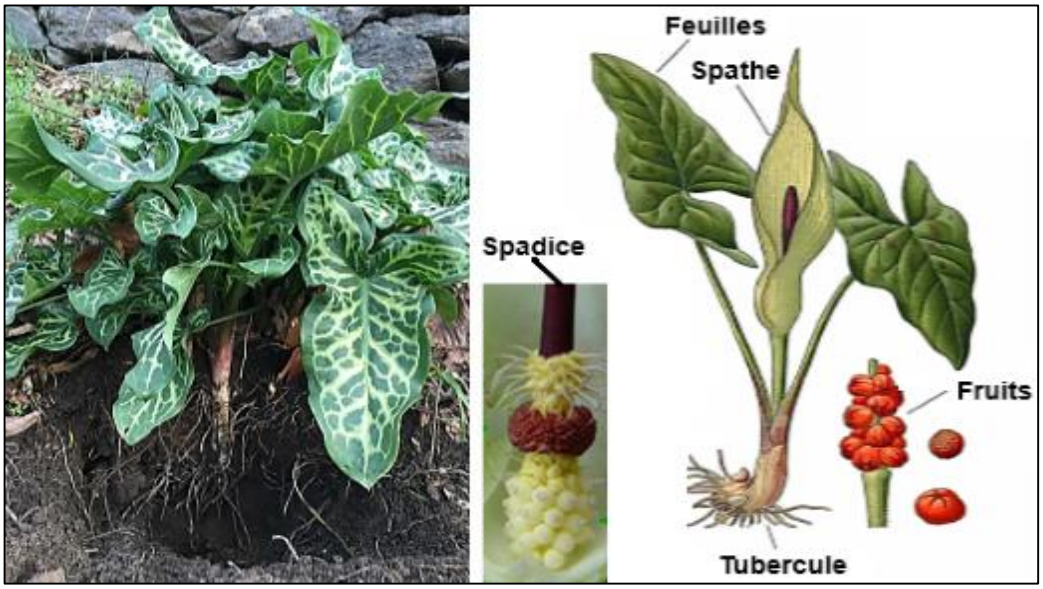


Figure 09. Aspects morphologiques d'*Arum italicum* Mill. (Atha et *al.*, 2017).

4.3.3. Utilisation en médecine traditionnelle

Les tubercules d'*Arum italicum* Mill. ont été consommés depuis l'Antiquité dans différents pays pendant les périodes de pénurie alimentaire et de famine, comme pendant la révolution et il a été fait une sorte de pain et de gâteaux (Salik et *al.*, 2002 ; Couplan, 2009).

Les tubercules, les feuilles et les fruits d'*A. italicum* Mill. sont utilisés dans la médecine traditionnelle. Il est suggéré que les tubercules séchés ont des effets laxatifs et expectorants. Ils ont également été consommés à l'état frais pour le traitement de l'eczéma, les plaies, les abcès, les fissures de la peau des pieds et des mamelons. En outre, il a été rapporté que les fruits mûrs ou les tubercules en poudre sont utilisés comme antidote contre les piqûres venimeuses, ainsi que les tubercules étaient utilisés pour le traitement des maladies telles que le rhumatisme, les hémorroïdes, les verrues, le cancer, l'ulcère d'estomac et les maladies gynécologiques (Salik et *al.*, 2002 ; Kozuharova et *al.*, 2014 ; Ağalar et *al.*, 2017). En pharmacopée traditionnelle kabyle les feuilles d'*A. italicum* Mill. sont utilisées comme un antitussif en usage externe (Hammiche, 2015).

4.3.4. Données phytochimiques

Le criblage phytochimique a montré que cette plante contienne des lignanes, des composés stéroïdiens et des alcaloïdes tels que l'arodine et l'aronine qui peuvent provoquer de fortes brûlures bucco-pharyngées ainsi que des vomissements (Couplan, 2009 ; Hammiche, 2015 ; Ağalar et *al.*, 2017). En outre, cette plante renferme des oxalates de calcium et des glycosides cyanogènes hautement létal (Atha et *al.*, 2017).

4.3.5. Données toxicologiques

À l'état frais, cette plante est toxique en raison de la présence d'alcaloïdes et de cristaux d'oxalate de calcium qui capables d'irriter très douloureusement les muqueuses. La consommation de plantes fraîches se caractérise par des nausées, des vomissements, des diarrhées et troubles du rythme cardiaque, et il peut provoquer un empoisonnement pouvant entraîner la mort. Mais, les effets de ses substances toxiques sont perdus lorsqu'il est séché et bouilli (Couplan, 2009 ; Quattrocchi, 2016 ; Ağalar et *al.*, 2017).

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire pédagogique du département de Biologie Moléculaire et Cellulaire - Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie - Université de Jijel. Notre étude est portée sur le dosage des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante de trois plantes médicinales largement utilisées dans la Wilaya de Jijel : *Thymus vulgaris* L., *Cynoglossum creticum* Mill., et *Arum italicum* Mill.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les feuilles de *Thymus vulgaris* L., *Cynoglossum creticum* Mill. et les tubercules d'*Arum italicum* Mill. ont été récoltées au mois de Juin 2018, Avril et Mars 2019 à partir de la région de Boudriaa, Ben Yadjis, Harratene et El-Akabi (Wilaya de Jijel). Tous les échantillons ont été nettoyés des impuretés, séchées à l'abri de la lumière dont les tubercules d'*Arum italicum* ont été coupés en tranches pour faciliter cette étape. Ensuite, ils ont été broyés à l'aide d'un mortier en poudre moyennement fine et conservées dans des flacons en verre à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.

1.2. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans notre étude sont :

- Les solvants : le méthanol, l'éthanol, le chloroforme.
- Les réactifs : trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), Folin-Ciocalteu, bicarbonate de sodium (Na_2CO_3), acide gallique, quercétine, acide tannique, acide ascorbique (Vitamine C), Butylated hydroxy toluen (BHT), persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), ferricyanide de potassium [$K_3Fe(CN)_6$], acide trichloracétique (TCA), chlorure ferrique ($FeCl_3$), β-carotène, Tween 40, Na_2HPO_4 et NaH_2PO_4.

Ces solvants et réactifs sont obtenus auprès de Fluka, Prolabo, Sigma-Aldrich, Organics et Janssen Chemica.

2. Méthodes

2.1. Extraction

2.1.1. Préparation de l'extrait éthanolique

L'extraction éthanolique a été réalisée par macération dans l'éthanol 80 % (volume/volume avec l'eau distillée) à raison de 10 g de la poudre pour 100 ml. La macération dure 72 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, avec une agitation régulière. Après filtration à travers le papier Wattman N°3, le filtrat est évaporé à l'aide d'un rotavapeur (KIT LAB®) presque à sec. Le résidu final est sécher dans une étuve à 45 °C, jusqu'à l'obtention d'un extrait conservée à 4 °C jusqu'à son utilisation (Mbiantcha et *al.*, 2011).

2.1.2. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux a été préparé en suivant un mode d'extraction traditionnelle ; l'infusion (Daoudi et *al.*, 2017). Brièvement, 10 g de la poudre des plantes ont été infusés dans 100 ml de l'eau distillée bouillante pendant 15 min. Après filtration, la solution obtenue est placée dans l'étuve à 45 °C jusqu'à l'obtention d'un extrait conservé par la suite à 4 °C.

A la fin de l'extraction, 6 extraits différents ont été récupérés : les extraits éthanoliques (TE, CE et AE) et les extraits aqueux (TA, CA et AA) pour *T. vulgaris*, *C. creticum* et *A. italicum*, respectivement.

2.2. Dosage des composés phénoliques

2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des phénols totaux dont l'analyse par le réactif de Folin-Ciocalteu est la plus courante. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). En milieu alcalin, la complexation du réactif de Folin-Ciocalteu avec les fonctions hydroxyles (OH) des phénols, se traduit par la formation d'un mélange bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène (Agbor et *al.*, 2014). L'intensité de la coloration bleue produite, qui a une absorbance maximale à 765 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait analysé (Georgé et *al.*, 2005).

Brièvement, 500 µl du réactif Folin-Ciocalteu (dilué à 10 % dans de l'eau distillée) sont ajoutés à 100 µl d'extrait avec des concentrations bien déterminées. Quatre minutes après, 400 µl de la solution de Na_2CO_3 (75 mg/ml) sont additionnées au mélange réactionnel. Après une incubation de

2 h à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 765 nm par un spectrophotomètre (SPECORD® 50 PLUS).

La droite d'étalonnage a été réalisée par l'acide gallique (0-100 µg/ml), en suivant les mêmes étapes de dosage. Les teneurs en polyphénols totaux sont déterminées à partir de la droite de régression de la courbe d'étalonnage (Annexe 01). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

2.2.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification de contenu flavonoique est estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) en suivant la méthode de Bahorun et ses collaborateurs (1996). En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de former une liaison covalente avec l'$AlCl_3$ et produire un complexe de couleur jaune dont l'absorbance maximale est à 430 nm (Ababsa, 2009). La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'échantillon (Ribéreau-Gayon et Gautheret, 1968).

À 1 ml d'échantillon, 1 ml de la solution d'$AlCl_3$ (2 % dans le méthanol) est ajouté. Après 10 min d'incubation, à température ambiante et à l'abri de la lumière, les absorbances sont mesurées par le spectrophotomètre à 430 nm. Toutes les manipulations sont répétées 3 fois. Dans les mêmes conditions, la gamme d'étalonnage de la quercétine (0-30 µg/ml), est établie. La quantité des flavonoïdes est déterminée à partir de courbe d'étalonnage (Annexe 02). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

2.2.3. Dosage des tannins hydrolysables

Le dosage des tannins hydrolysables a été réalisé en suivant la méthode de Mole et Waterman (1987). Les tannins hydrolysables réagissent avec le chlorure ferrique et donnent un complexe bleu mesurée par spectrophotométrie. Pour cela, 1 ml d'extrait est mélangé avec 3.5 ml de $FeCl_3$ (0.01 % dans HCl 0.001 M). Après homogénéisation et incubation pendant 10 min, les absorbances ont été mesurées à 660 nm. La teneur en tanins hydrolysables est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique (Annexe 03). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g).

2.3. Évaluation de l'activité antioxydante

Dans la présente étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits issus des plantes étudiées est établie en estimant : le pouvoir réducteur, l'effet scavenger envers le radical ABTS et le radical hydroxyle et finalement l'inhibition du blanchiment de β-carotène.

2.3.1. Piégeage du radical cationique $ABTS^{+\bullet}$

L'effet piégeur du radical cationique $ABTS^{+\bullet}$ est déterminé selon la méthode de Re et ses collaborateurs (1999). Le radical cationique $ABTS^{+\bullet}$ a été produit en faisant réagir une solution mère d'ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium (2,45 mM). Après incubation à température ambiante pendant 12 à 16 heures à l'obscurité, la solution a été diluée avec le méthanol et équilibrée pour une absorbance de 0,70 ± 0,02 à 734 nm. L'activité antioxydante est estimée en mélangeant 50 µl d'extrait dilué ou du BHT avec 1 ml de la solution d'$ABTS^{+\bullet}$**.** L'absorbance est ensuite lue à 734 nm, après 30 minutes d'incubation à température ambiante. L'activité antioxydante est calculée comme suit :

$$\textbf{Activité antioxydante (\%)} = (A_C - A_E / A_C) \times 100$$

$\mathbf{A_C}$: absorbance sans échantillon (control).

$\mathbf{A_E}$: absorbance en présence de l'échantillon.

2.3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé selon la méthode de Chung et ses collaborateurs (2005). Cent microlitres (100 µl) de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 100 µl de ferricyanure de potassium ($[K_3Fe(CN)_6]$, 1 %) sont ajoutés à 100 µl de différentes concentrations d'extrait ou du BHT. Le mélange est incubé pendant 20 min à 50 °C. Après incubation, 250 µl d'acide trichloracétique (TCA, 1 %) sont ajoutés et soumis à une centrifugation à 3000 rpm/min pendant 10 min. Ensuite, 250 µl du surnageant est prélevé pour ajouter 250 µl d'eau distillée et 500 µl de chlorure ferrique ($FeCl_3$, 0,1 %) ; la lecture se fait à 700 nm.

La valeur d'EC_{50} est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et est calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon**.**

2.3.3. Blanchissement du β-carotène

La capacité des extraits à prévenir le blanchissement de la β-carotène est déterminé selon la méthode décrite par Miller en 1971 et qui est modifiée par Aslan et ses collaborateurs (2006). Brièvement, une émulsion de β-carotène/acide linoléique a été préparée par la solubilisation de 0,5 mg de β-carotène dans 1000 µl du chloroforme. Vingt-cinq microlitres (25 µl) de l'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 sont additionnées. Le chloroforme est ensuite évaporé, en utilisant un rotavapeur (KIT LAB®), et 100 ml d'eau distillée oxygéné ont été ajoutés avec une agitation vigoureuse de l'émulsion résultante.

Pour la réalisation du test, 2500 µl de l'émulsion précédente sont ajoutés à 350 µl de l'extrait à analyser (2 mg/ml). L'antioxydant standard (BHT) est utilisé comme un contrôle positif, alors que le contrôle négatif est réalisé par le solvant de solubilisation des extraits.

La décoloration de β-carotène est suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant les 5 premières heures, puis après 24 heures et 48 heures. L'inhibition de la dégradation de la β-carotène par les extraits (% inhibition) est calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = A_t \text{ (extrait)} \times 100 / A_t \text{ (BHT)}$$

A_t (extrait) : absorbance de l'extrait dans un temps déterminé.

A_t (BHT) : absorbance de BHT dans un temps déterminé.

2.3.4. Piégeage du radical hydroxyle

La capacité de piéger les radicaux hydroxyles a été mesurée par la méthode de Smirnoff et Cumbes (1989). Le mélange réactionnel (3 ml) est constitué de 1 ml de sulfate ferreux (1,5 mM), 700 µl de peroxyde d'hydrogène (6 mM), 300 µl de salicylate de sodium (20 mM) et 1 ml des différents extraits ou d'acide ascorbique (Vitamine C), qui a été incubé à 37 °C pendant 1 h. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 562 nm contre un blanc. L'activité antioxydante est calculée comme suit :

$$\text{Activité antioxydante (\%)} = [1 - (A_S - A_B / A_C)] \times 100$$

A_C : absorbance sans échantillon (control).

A_B : absorbance du blanc (sans salicylate de sodium).

A_S : absorbance en présence de l'échantillon.

2.4. Analyses statistiques

Les résultats des tests réalisés sont exprimés en moyenne ± SD. Les valeurs EC_{50} et IC_{50} sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [Absorbance = f (concentration)] et [% inhibition = f (concentration)], respectivement. Les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par le test ANOVA One-way suivi du test de Dunnett pour comparaison multiple, en utilisant le logiciel GraphPad Prism7®. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

1. Rendement d'extraction

L'extraction des feuillets des plantes de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et les tubercules d'*Arum italicum* a été réalisée par l'éthanol 80 % et par l'eau distillée. Après extraction et élimination de toute trace de solvant, le rendement est calculé selon la formule ci-dessous et les résultats sont présentés dans le tableau 03.

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Poids de l'extrait obtenu}}{\text{Poids de la poudre de plante}} \times 100$$

Tableau 03. Rendement d'extraction de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et d'*Arum italicum*.

		Thymus vulgaris	*Cynoglossum creticum*	*Arum italicum*
Rendement (%)	**Extrait aqueux**	20.1	14.2	11.6
	Extrait éthanolique	18.5	15.3	8.7

D'après les résultats obtenus, on a constaté que *T. vulgaris* a donné le meilleur rendement suivi par *C. creticum* et *A. italicum*. Il est à noter également que le rendement des extraits aqueux est relativement élevé par rapport au rendement des extraits éthanoliques, à l'exception de *C. creticum* où le rendement le plus faible est celui de l'extrait aqueux.

Le rendement d'extraction de *T. vulgaris* (TA et TE) reste supérieur à celui rapporté par Sokmen et *al.* (2004), Ramchoun et *al.* (2012), Yakhlef (2013) et Kholkhal (2014) qui ont travaillés sur plusieurs espèces de *Thymus* (*T. vulgaris*, *T. atlanticus*, *T. satureioides*, *T. spathulifolius T. ciliatus* et *T. coloratus*) et qui ont trouvés des rendements variables allant de 9,25 jusqu'à 14,8 % pour les extraits aqueux et alcooliques.

Contrairement à *T. vulgaris*, quelques rapports seulement décrivent l'extraction des espèces de la même famille que *C. creticum*. En ce qui concerne l'extrait CA, on a trouvé un rendement supérieur à celui obtenu pour *Anchusa azurea* (Boussoualim, 2014) où le rendement d'extraction ne dépasse pas 3.61 %. En plus, l'extraction aqueuse et éthanolique d'*Heliotropium indicum* et *Borago officinalis* (Patomo, 2006 ; Zemmouri, 2014) a donnée des rendements inférieurs à ceux obtenues dans la présente étude (18 % à 45 % du poids sec).

Cette variabilité dans les valeurs des rendements d'extraction est due à plusieurs facteurs entre autres : la distribution géographique, la température et le pH du milieu d'extraction, ainsi que le solvant utilisé pour l'extraction (volume et nature). Le caractère polaire ou non des composés phénoliques conditionne le choix du solvant approprié. La solubilité des polyphénols est étroitement liée au degré de polymérisation en raison de l'augmentation de nombre de groupement hydroxyles (Bonnaille et *al*., 2012). En plus, des études ultérieures ont rapportés que les plantes ayant des rendements d'extraction élevés contiennent une forte teneur en composés phénoliques (Lehtinen et Laakso, 1998 ; Borneley et Peyrat-Maillard, 2000).

2. Teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables

Après extraction, les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables dans les extraits aqueux et éthanoliques des différentes plantes sont estimées en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, la méthode de trichlorure d'aluminium et la méthode décrite par Mole et Waterman (1987), respectivement. Les résultats sont représentés dans le tableau 04.

Tableau 04. Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins hydrolysables dans les différents extraits de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et d'*Arum italicum*.

		Polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	Flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait)	Tannins hydrolysables (mg EAT/g d'extrait)
T. vulgaris	**TA**	90.91 ± 1.67	13.36 ± 0.20	32.94 ± 0.37
	TE	89.70 ± 2.90	11.37 ± 1.02	107.20 ± 1.60
C. creticum	**CA**	56.99 ± 2.60	3.58 ± 0.01	83.68 ± 1.60
	CE	83.54 ± 2.67	21.06 ± 2.93	64.98 ± 0.25
A. italicum	**AA**	2.79 ± 0.17	0 ± 0.05	6.28 ± 2.22
	AE	7.65 ± 0.59	0 ± 0.09	1.09 ± 0.24

Les valeurs représentent la moyenne ± SD (n=3).

Le tableau 04 montre que les extraits éthanoliques sont riches en polyphénols totaux et en tanins hydrolysables alors que leurs composition en flavonoïdes est relativement faible. De plus, il est à noter que *T. vulgaris* a la meilleure teneur en polyphénols, en tannins hydrolysables et en flavonoïdes suivi par *C. creticum* et *A. italicum*.

Les résultats du dosage démontrent que TA contient des teneurs élevés en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables que celles rapportées par Habashy et *al.* (2018) (44.16 ± 1.47 mg EAG/g, 17.86 ± 0.71 mg ER/g et 21.49 ± 1.68 mg ECA/g, pour polyphénols, flavonoïdes et tannins, respectivement). Par ailleurs, TE possède des teneurs plus faibles par rapport à ce qui est rapporté par El-Newary et ses collaborateurs en 2017 (214.55 ± 15.65 EAG/g, 143.75 ± 13.45 mg ECA/g pour les polyphénols et les flavonoïdes).

En 2014, Zemmouri et *al.* ont montré que l'extrait aqueux de *Borago officinalis*, une plante appartient de la famille de *Boraginaceae*, contient une teneur en polyphénols et en tannins égale à 35.48 ± 2.70 mg EAG/g et 3.14 ± 0.60 mg EAC/g, respectivement. Des teneurs qui sont nettement inférieures aux valeurs obtenues pour CA. De plus, les mêmes auteurs ont trouvé que la teneur en polyphénols (94.09 ± 1.72 mg EAG/g) et en flavonoïdes (37.65 ± 3.93 mg EQ/g) dans l'extrait éthanolique de *Borago officinalis* était supérieur à celle de CE dans la présente étude.

Concernant l'*A. italicum*, on a constaté que les deux extraits AA et AE renferment des teneurs faibles voir nulles en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins par rapport aux autres espèces étudiés. Des résultats qui sont nettement inférieurs à ceux rapportés par Farahmandfar et *al*. (2019) où la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des feuilles d'*Arum maculatum* était de 39.85 ± 0.3 mg EAG /g et 1.67 ± 0.65 mg ECA/g, respectivement pour l'extrait aqueux, et de l'ordre 51.09 ± 1.43 mg EAG /g, 4.17 ± 1.25 mg ECA/g pour l'extrait éthanolique.

Tous comme le rendement, les variations dans la teneur en composés phénoliques dépendent de plusieurs facteurs essentiellement le climat, la localisation géographique (Ryan et *al.*, 1999), la saison de culture, la saison de récolte, la maturité, les conditions de stockage et les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Poyrazoglu et *al.*, 2002). Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins hydrolysables peuvent servir comme des bons indicateurs des capacités pharmacologiques des plantes médicinales (Viuda-Martos et *al.*, 2010), mais l'objectif principale du dosage de ces métabolites secondaires réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes sont attribués à leur présence (Li et *al.*, 2007).

3. Activité antioxydante de *T. vulgaris, C. creticum* et d'*A. italicum*

L'effet antioxydant des composés phénoliques est désormais munis d'un grand intérêt du à son effet protecteur contre les diverses maladies ainsi qu'à son effet inhibiteur de la peroxydation lipidique (Bubonja-Sonje et *al*., 2011).

Cependant, les processus oxydatifs sont très variés et complexes et la nature de l'activité antioxydante peut être multiforme et attribuée aux différents mécanismes tels que le piégeage des radicaux libres (effet scavenger), la chélation des ions métalliques de transition (la réduction) et même la prévention de l'initiation d'une chaine d'oxydation productrice des ROS (la peroxydation lipidique) (Ozen, 2009). Ainsi, la combinaison de plusieurs tests antioxydants complémentaires les uns aux autres est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des plantes ou de leurs extraits (Ksouri et *al*., 2009).

3.1. Effet piégeur envers le radical $ABTS^{+\bullet}$

L'activité anti-radicalaire des extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical $ABTS^{+\bullet}$ « 2,2'-Azinobis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) » (Moon et Shibamoto, 2009). Ce radical cationique est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en bleu-vert (Prouillac, 2009). La neutralisation du radical $ABTS^{+\bullet}$ par un antioxydant se traduit par la décoloration de la solution et la diminution de l'absorbance (Gülçin, 2010). Une diminution qui est proportionnelle à l'effet antioxydante (Re et *al*., 1999).

Les profils de l'activité anti-radicalaire obtenus (Figure 10) révèlent que la capacité de piégeage du radical $ABTS^{+\bullet}$ par les extraits et le BHT est augmenté d'une manière concentration-dépendante. À faible concentration (0-10 µg/ml), TE et TA exercent l'effet piégeur le plus puissant par rapport aux autres échantillons y compris le BHT. Une expérience réalisée *in vitro* a montré que l'extrait acétonique de *T. vulgaris* est capable de piéger 70 % des radicaux $DPPH^{\bullet}$ à la concentration de 500 µg/ml (Kazeem et *al.*, 2015).

D'autre part, nos résultats indiquent qu'une concentration de 48 µg/ml de CE et CA est capable de piéger 63.78 ± 0.46 % et 60.85 ± 3.95 % des radicaux $ABTS^{+\bullet}$ alors que Anitha (2012) suggèrent que *C. zeylanicum* a une activité de 84.63 % à une dose de 800 µg/ml envers le radical $ABTS^{+\bullet}$. Concernant les extraits AE et AA, une activité relativement faible a été enregistrée pour 48 µg/ml (21.48 ± 0.71 % et 26.48 ± 3.09 %). L'étude de Farahmandfar et son équipe montre que l'extrait éthanolique d'*Arum maculatum* possède un effet piégeur similaire (31.19 ± 2.12 % d'inhibition) pour une concentration de 200 ppm (Farahmandfar et *al.*, 2019).

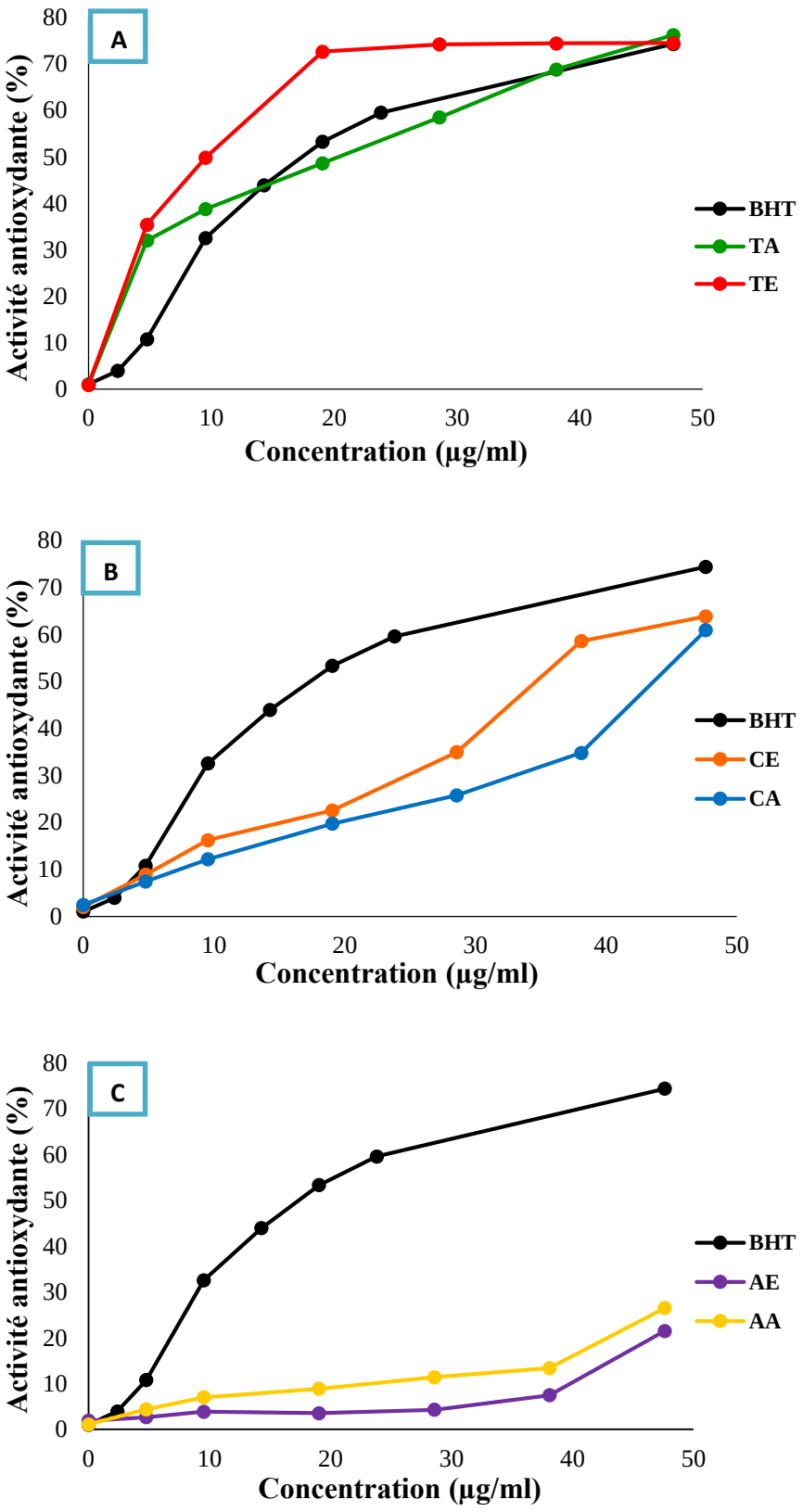


Figure 10. Effet piégeur des différentes concentrations des extraits de *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C) et du BHT envers le radical $ABTS^{+\bullet}$. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais ± SD.

La concentration nécessaire pour réduire 50 % des radicaux $ABTS^{+\bullet}$ (IC_{50}) est utilisé pour estimer l'activité antioxydante d'un composé ; plus la valeur d'IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante est élevée (Benabed et *al.*, 2017). Les valeurs obtenues sont illustrés dans la figure 11. En comparant les IC_{50} des extraits à celle du standard, on peut dire que l'activité anti-radicalaire de TA, TE, CA et CE (25.99 ± 0.39 µg/ml, 11.23 ± 1.82 µg/ml, 48.86 ± 1.92 µg/ml et 36.43 ± 9.28 µg/ml) est significativement similaire à celle de BHT (18.32 ± 0.17 µg/ml).

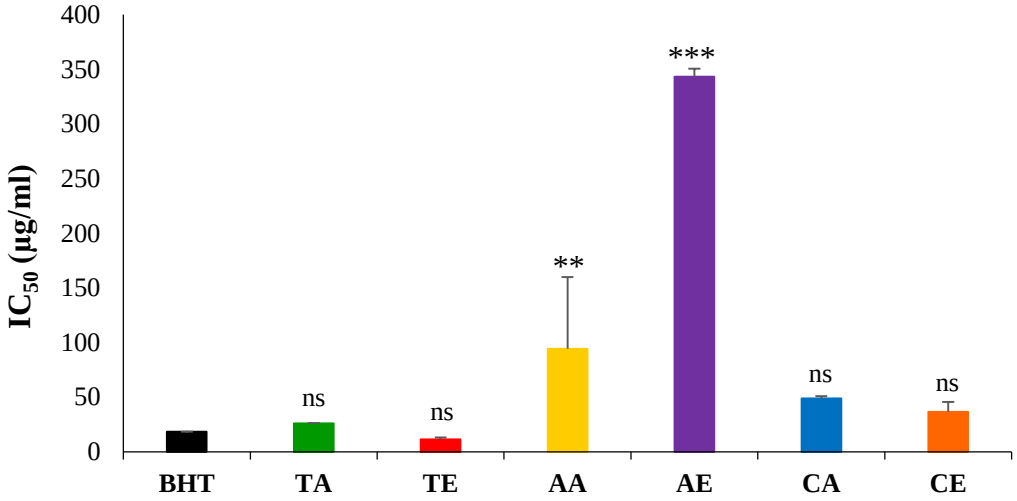


Figure 11. Activité anti-radicalaire des extraits de *T. vulgaris*, *C. creticum*, *A. italicum* et du BHT contre le radical $ABTS^{+\bullet}$ exprimés en IC_{50}. Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n=3) ; ^{ns} ($p > 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$), comparant avec le BHT (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple du Dunnett).

L'IC_{50} de TA et TE est en accord avec les valeurs obtenues par Yakhlef (2013) dont la concentration nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH est 13.97± 0.584 µg/ml. Par ailleurs, les mêmes extraits sont plus forts que l'huile essentielle de *T. vulgaris* étudiée par Ballester-Costa et *al.* (2017) qui présente un bon effet anti-radicalaire avec une IC_{50} égale à 6.46 ± 0.11 mg/ml contre le radical $ABTS^{+\bullet}$.

D'autre part, et en ce qui concerne les extraits CA et CE, nos valeurs d'IC_{50} sont supérieures à celles décrites par Anitha et *al.* (2012) qui ont étudiés plusieurs fractions de *C. zeylanicum* (éther de pétrole, benzène, acétate d'éthyle, méthanol et éthanol) et qui ont trouvés les valeurs d'IC_{50} suivantes : 17.93 µg/ml, 18.32 µg/ml, 20.56 µg/ml, 28.33 µg/ml, 29.56 µg/ml.

Contrairement à *T. vulgaris* et *C. creticum*, les extraits d'*A. italicum* sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré contre les radicaux $ABTS^{+\bullet}$, avec une IC_{50} égale à 94.1 ± 65.81 µg/ml et 343.2 ± 7.29 µg/ml pour l'extrait AA et AE, respectivement.

Des valeurs qui sont plus élevées que celles obtenues par Jaradat et Abualhasan (2016), où l'extrait méthanolique d'*A. dioscoridis*, *A. elongatum*, *A. hygrophilum* et *A. palaestinum*, possède une capacité de piégeage du radical DPPH$^{\bullet}$ avec une IC_{50} de l'ordre de 6.7 ± 0.75 µg/ml, 19.9 ± 0.63 µg/ml, 9.9 ± 0.49 µg/ml et 6.9 ± 0.62 µg/ml, respectivement.

La différence de l'activité antioxydante des extraits pourrait être attribuée à une différence de la teneur en polyphénols et/ou en flavonoïdes. Plusieurs études indiquent la présence d'une corrélation positive entre l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques et leurs structures (Luximon-Ramma et *al.*, 2002 ; Lamien-Meda et *al.*, 2008 ; Suhartono et *al.*, 2012). Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent l'activité anti-radicalaire la plus élevée (Heim et *al.*, 2002), due à leur pouvoir de donner plus d'atomes d'hydrogènes pour stabiliser les radicaux libres (Torres de pinedo et *al.*, 2007). L'activité anti-radicalaire est donc dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, glycosylés) et le degré de polymérisation (Popovici et *al.*, 2010). Ainsi, l'effet anti-radicalaire n'est pas seulement concentration-dépendant mais également structure-dépendant (Rodriguez-Bernaldo et *al.*, 2010).

3.2. Pouvoir réducteur du Fer

La capacité de donner des électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée pour d'estimer l'activité antioxydante d'un composé. Dans cette technique, il est possible de mesurer la capacité des antioxydants présents dans les extraits des plantes en mesurant leur pouvoir réducteur du fer ferrique (Fe^{+3}) du ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{+2}). Celui-ci se traduit par le changement de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers une couleur bleue verdâtre dans un milieu acidifié par l'acide trichloracétique, dont l'intensité de la couleur dépend du pouvoir réducteur (Ribéro et *al.*, 2008).

La figure 12 reflète la capacité des extraits éthanoliques et aqueux à réduire les ions Fe^{3+} d'une manière concentration-dépendante ; c'est-à-dire que la capacité de réduction de fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des d'extraits. À 45 µg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux est relativement supérieur par rapport à l'extrait éthanolique et au BHT, à l'exception d'*A. italicum*. De plus, il est à noter que le meilleur pouvoir réducteur a été obtenu par *T. vulgaris* suivi par *C. creticum* et *A. italicum*.

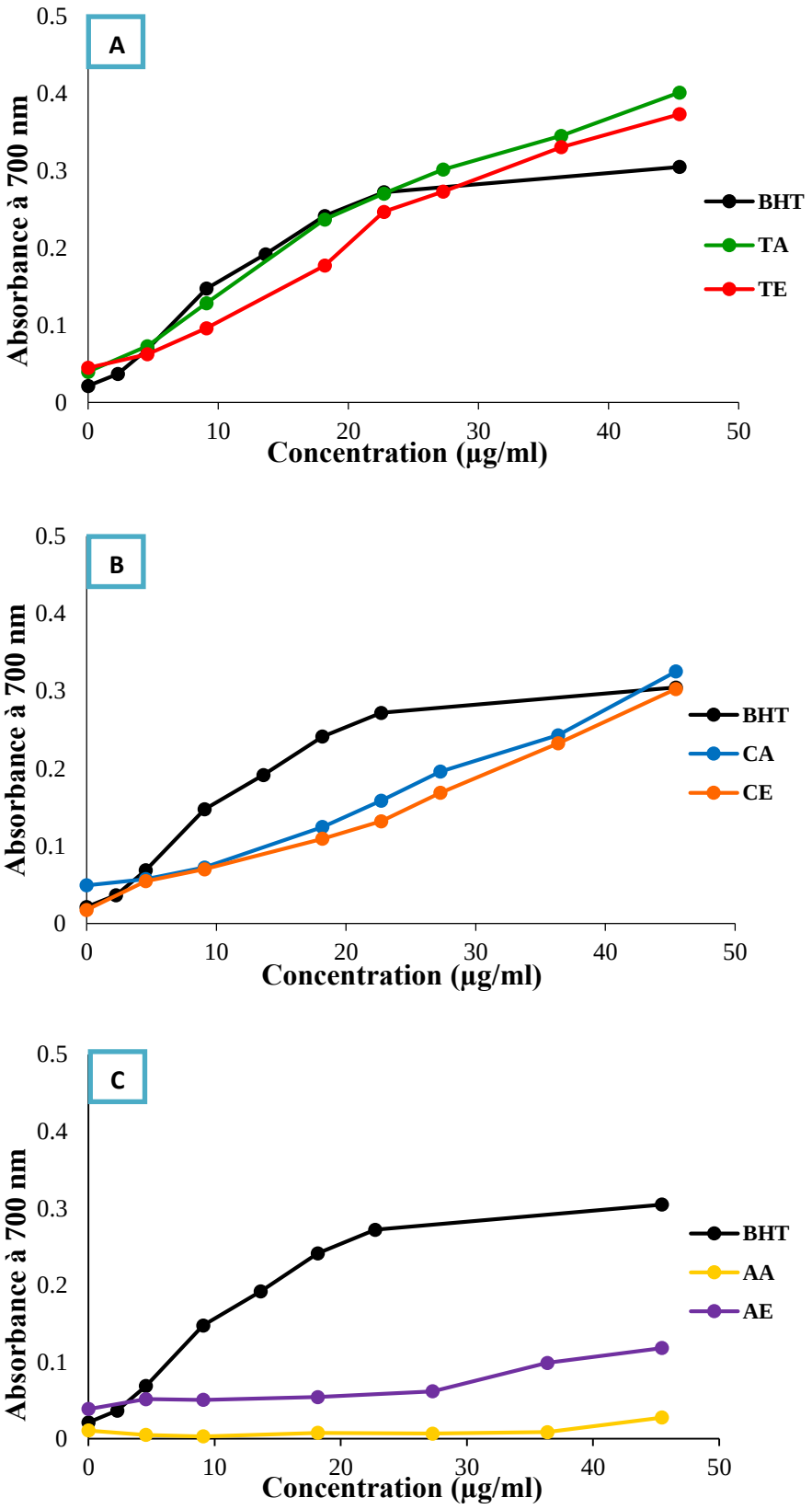


Figure 12. Pouvoir réducteur des différentes concentrations des extraits de *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C) et du BHT. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais ± SD.

Le potentiel réducteur est également exprimé en concentration effectrice lorsque l'absorbance est égale à 0.5 où l'EC_{50} la plus faible correspond à l'extrait le plus actif. La figure 13 montre que les extraits aqueux et éthanolique de *T. vulgaris* et *C. creticum* possèdent une capacité réductrice similaire à celle de BHT et une meilleur capacité réductrices par rapport aux extraits d'*A. italicum* ($p > 0.05$). Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Habashy et *al.* (2018) qui ont trouvé que l'EC_{50} de l'extrait aqueux de *T. vulgaris* est égale à 4.22 ± 0.23 µg/ml. Par contre, CA et CE exercent un effet réducteur relativement élevé à celui décrit par Bensaid et son équipe (2018) qui a travaillé sur la fraction d'acétate-éthyle des feuilles de *C. cheirifolium* (EC_{50} = 0.622 ± 0.009 mg/ml).

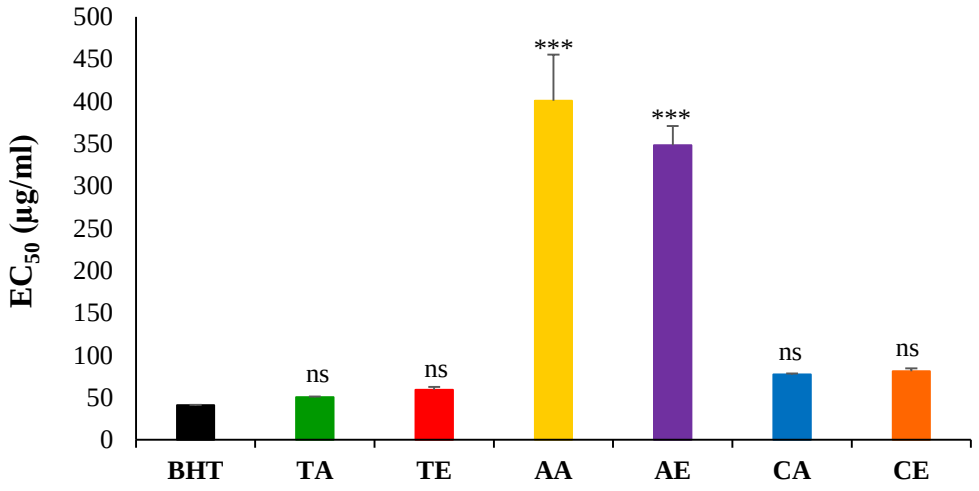


Figure 13. Pouvoir réducteur des extraits de *T. vulgaris*, *C. creticum*, *A. italicum* et de BHT exprimé en EC_{50}. Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3), ^{ns} ($p > 0,05$), *** ($p < 0,001$), comparant avec le BHT (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple du Dunnett).

Il existe une bonne relation entre le pouvoir réducteur des extraits aqueux et éthanolique et leurs teneurs en polyphénols où l'extrait éthanolique, qui est le plus riche en composés phénoliques (polyphénols totaux et tannins) présente l'activité réductrice la plus puissante. Ainsi, le pouvoir réducteur des extraits pourrait être lié à la présence des groupements hydroxyles dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Kumarappan et *al.* (2012) ont signalé que les donneurs d'électrons pourraient réagir avec les radicaux libres pour les transformer en produits plus stables et arrêter les chaines des réactions radicalaires ; c'est ce qu'on appelle pouvoir réducteur. Ils ont rapporté aussi que l'activité antioxydante des composés naturels peuvent avoir une corrélation réciproque avec leur pouvoir réducteur du fer (Kumarappan et *al.*, 2012 ; Guettaf et *al.*, 2016).

3.3. Blanchissement de β-carotène

Dans le système acide linoléique/β-carotène, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, qui vont par la suite oxyder le β-carotène entrainant ainsi son oxydation et la disparition de son couleur orange. Cependant l'addition d'un antioxydant pure (Von Gadow et *al.*, 1997) ou sous forme d'extrait végétal (Koleva et *al.*, 2002) pourrait neutraliser les radicaux peroxydes et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β-carotène. Cela induit un retard de la cinétique de décoloration du β-carotène au cours du temps.

Pour évaluer la puissance des extraits aqueux et éthanoliques à ralentir ou inhiber l'oxydation de β-carotène, un suivi de la réaction d'oxydation a été réalisé en mesurant tout abaissement d'absorbance à 490 nm en fonction du temps. Les résultats obtenus, exprimés en pourcentage d'inhibition du blanchissement de β-carotène, sont représentés dans la figure 14.

À partir des courbes de blanchissement du β-carotène, il est clair que le pourcentage d'inhibition des extraits diminue progressivement en fonction de temps pour atteindre des valeurs plus ou moins basses.

En présence du contrôle positif (BHT), les absorbances de la solution de β-carotène restent presque stables durant toute la période d'incubation. Alors que les contrôles négatifs ne montrent qu'une très faible activité antioxydante qui ne dépasse pas 11.19 % et 6.68 % pour l'eau et l'éthanol, respectivement, après 48 heures d'incubation (Figure 15).

La figure 15 montre également que l'oxydation couplée de l'acide linoléique et de β-carotène est efficacement inhibée par TE, CA, TA, CE, mais faiblement inhibée par AA et AE. Ainsi, l'activité antioxydant la plus élevée est donné par TE avec un pourcentage de 56.51 ± 2.11 %. Une activité qui reste significativement inférieure à celle du BHT (94.08 ± 3.64 %) ($p < 0.001$). Les autres extraits montrent des activités voisines mineures dont l'ordre est comme suit : TE > CA (53.53 ± 3.38 %) > TA (45.94 ± 1.71 %) > CE (43.07± 1.11 %) > AE (17.47 ± 0.64 %) > AA (15.49 ± 0.90 %).

L'inhibition de l'oxydation de β-carotène par TA et TE est inférieure à celle obtenue pour l'huile essentielle de *T. serpyllum* (84.2 %) et *T. linear* (76 %) pour une concentration de 4mg/ml (Hussain et *al.*, 2013) et aussi inférieure à ce qui est décrit par Bouhdid et son équipe (2006) qui ont trouvés un pourcentage d'inhibition égale à 70 % et 74.5 % pour l'huile essentielle de *T. vulgaris* et *T. satureioides*, respectivement.

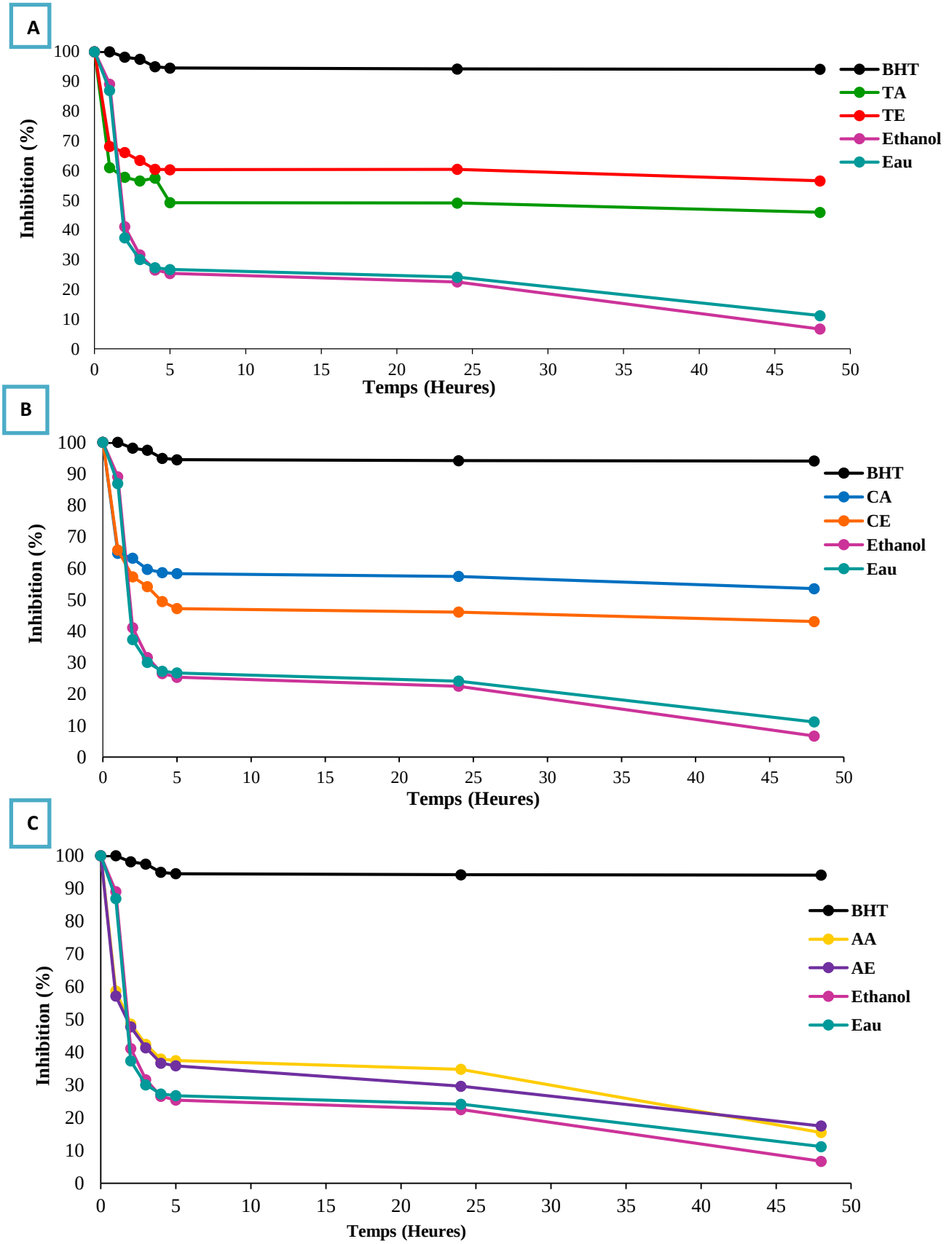


Figure 14. Activité antioxydante des différents extraits *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C), du BHT, de l'eau et de l'éthanol dans le test du blanchissement de β-carotène. Chaque point représente la moyenne ± SD (n = 3).

Lorsqu'on compare le pourcentage d'inhibition de *C. creticum* de la présente étude avec celui de l'extrait éthanolique de *Borago officinalis* décrit par Gupta et Singh (2010), on le trouve plus supérieur (81 % pour 200 ppm). En ce qui concerne l'*A. italicum*, Uguzlar et *al.* (2011) ont signalé que l'extrait méthanolique des graines d'*A. dioscoridis* a un pourcentage d'inhibition de 78.3 ± 1.7 %. Une inhibition qui est clairement supérieure celle d'*A. italicum*.

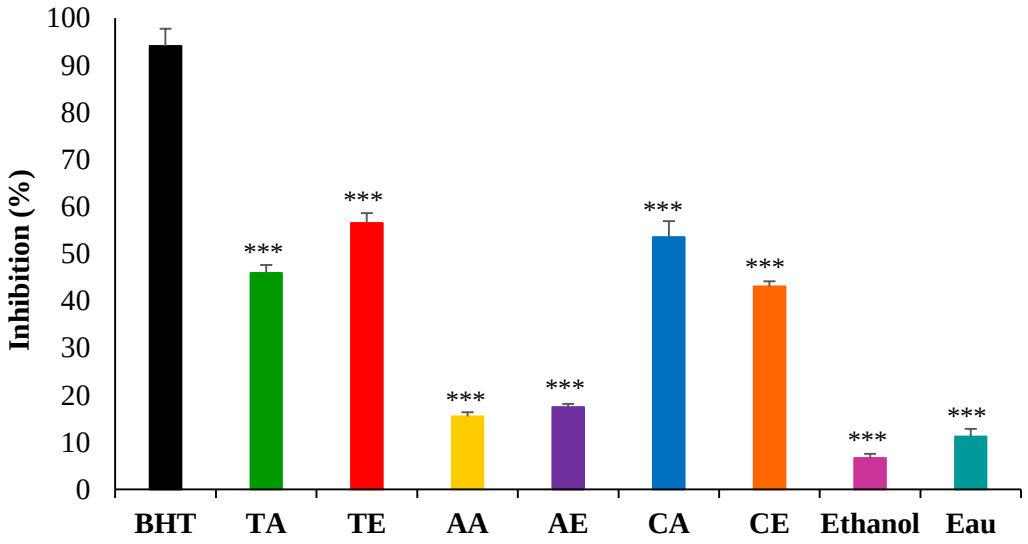


Figure 15. Pourcentage d'inhibition du blanchissement de β-carotène après 48 heures par les différents extraits, le BHT et les contrôles négatifs. *** ($p < 0.001$), comparant avec le BHT (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple de Dunnett).

Le système β-carotène/acide linoléique est très utile comme modèle mimétique de la peroxydation lipidique dans les membranes biologiques (Ferreira et *al.*, 2006). Ainsi, l'acide linoléique pourrait servir comme modèle d'acides gras trouvés dans les membranes biologiques (Bougatef et *al.*, 2009).

Les radicaux peroxydes, provenant de l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir des groupements méthylènes diallyliques de l'acide linoléique, attaquent le β-carotène hautement insaturé entraînant ainsi son oxydation (Amarowicz et *al.*, 2010). Cependant, la présence des antioxydants dans le mélange réactionnel pourrait inhiber relativement l'oxydation de β-carotène. Cette inhibition est due probablement, soit à l'inhibition de l'auto-oxydation de l'acide linoléique ou au piégeage des radicaux peroxydes formés durant leur oxydation (Tepe et *al.*, 2005).

LiyanaPathirana et Shahidi (2006) ont rapporté, également, que l'échantillon qui inhibe ou retarde le blanchissement du β-carotène peut être décrit comme un piégeur de radicaux libres et comme antioxydant primaire dont l'activité antioxydante peut être due à la présence des polyphénols ou des flavonoïdes. Ces derniers jouent un rôle très important dans la stabilisation de la peroxydation lipidique (Baghiani et *al.,* 2010) où leurs activité antioxydante est largement prédite en fonction de leur structure chimique (Rastija et Medic-Saric, 2009). C'est pourquoi Deba et *al.* (2008) suggèrent que l'activité antioxydante des extraits des plantes réside dans le fait que les polyphénols ont la capacité de donner des atomes d'hydrogène aux radicaux libres issus de l'oxydation de l'acide linoléique et, par conséquent, de stopper l'attaque radicalaire *vis-à-vis* le β-carotène.

3.4. Effet piégeur du radical hydroxyle

Le radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$) est un radical libre extrêmement réactif. Il est formé dans les systèmes biologiques à partir de l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre, suivant la réaction de Haber Weiss (Castro et Freeman, 2001). *In vitro,* La capacité des extraits des plantes à piéger le radical $OH^{\bullet}$ est estimée selon la méthode décrite par Smirnoff et Cumbes (1989), dont le principe est basé sur la production du radical hydroxyle à travers la réaction de Fenton. Le radical $OH^{\bullet}$ ainsi produit réagi avec le sodium salicylate pour produire le salicylate hydroxylé.

L'augmentation proportionnelle de la capacité de piégeage des différents extraits et de la vitamine C *vis-à-vis* le radical $OH^{\bullet}$ est illustrée dans la figure 16. À la concentration de 340 µg/ml, TA, TE, CA et CE ont montrés un effet scavenger puissant par rapport à la vitamine C (338.5 ± 0.26 %, 363.86 ± 4.90 %, 235.44 ± 2.80 % et 272.41 ± 0.86 %, respectivement). En ce qui concerne les extraits AE et AA, et pour la même concentration (340 µg/ml), un pourcentage de piégeage du radical $OH^{\bullet}$ inférieure à celui de la vitamine C et de l'ordre de 58.16± 0.51 % et 52.48 ± 1.99 %, a été enregistré.

La figure 17 montre que les extraits de *C. creticum* sont les plus actifs avec une IC_{50} égale à 24.21 ± 0.33 µg/ml et 33.15 ± 2.30 µg/ml, pour CA et CE, respectivement. Celles-ci sont mieux que l'IC_{50} obtenue par la vitamine C (76.06 ± 3.26 µg/ml). Les autres extraits ont des activités antioxydantes voisines mineurs dont l'ordre est comme suit : TE (52.93 ± 0.95 µg/ml) > TA (67.02 ± 1.83 µg/ml) > AE (106.86 ± 0.16 µg/ml) > AA (143.43 ± 5.02 µg/ml).

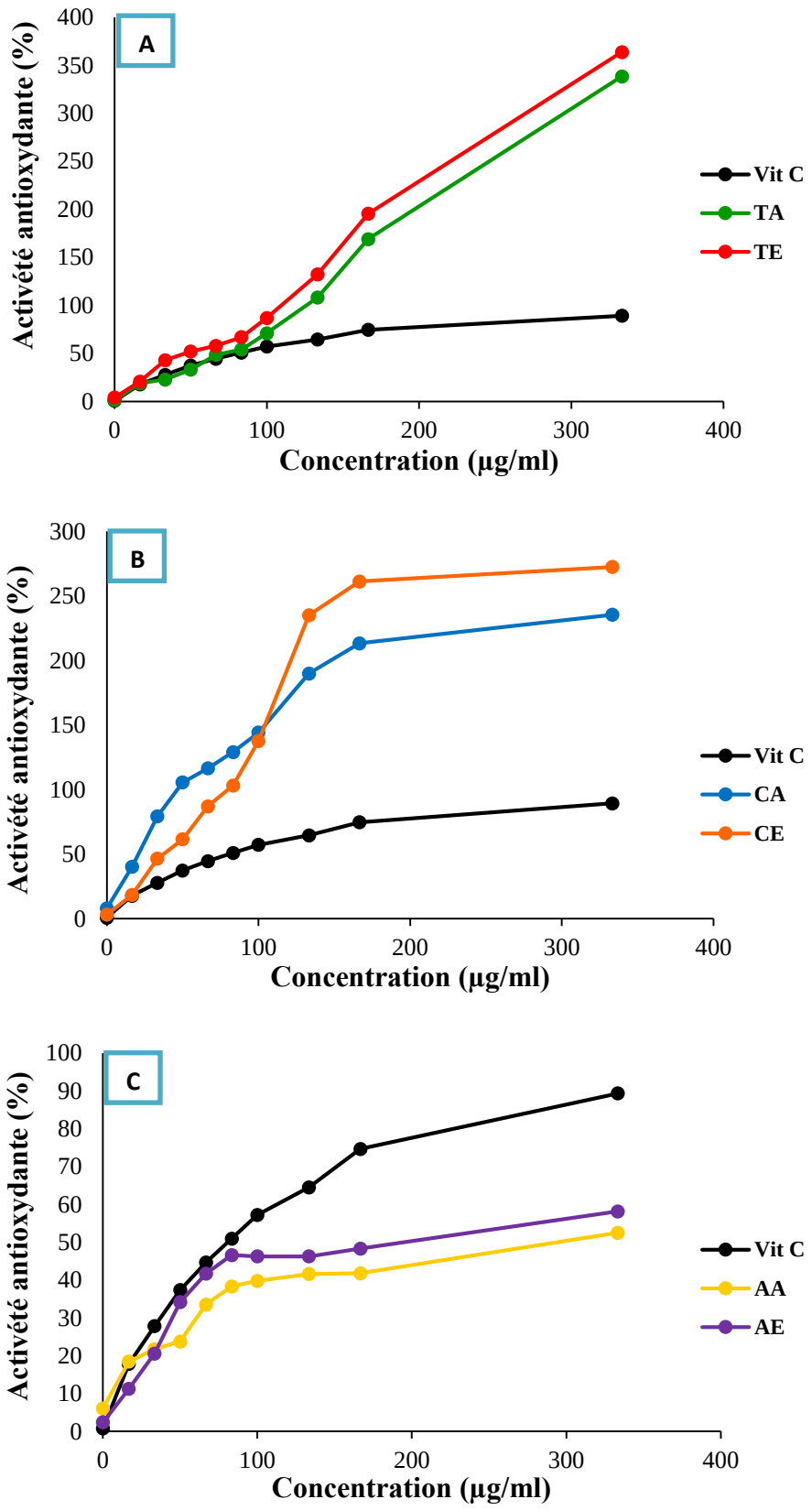


Figure 16. Effet piégeur des différentes concentrations des extraits *T. vulgaris* (A), *C. creticum* (B), *A. italicum* (C) et du BHT envers le radical hydroxyle. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais ± SD.

Compte tenu les résultats obtenus et la présence de plusieurs composés phénoliques dans les différents extraits étudiés, les activités observées contre les radicaux hydroxyles sont probablement dues à la présence de ces composés, qui contribuent aux effets protecteurs observés dans la présente étude.

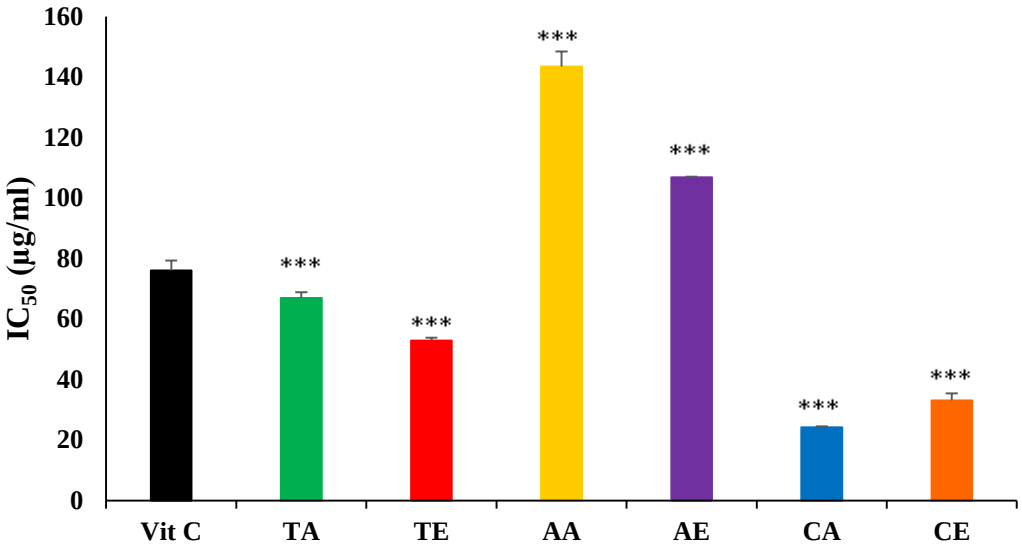


Figure 17. Activité anti-radicalaire des déférents extraits et de la vitamine C envers le radical hydroxyle exprimés en IC_{50}. Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n=3) ; *** ($p < 0.001$), comparant avec la vitamine C (ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison multiple du Dunnett).

Selon les données expérimentales de la littérature, deux mécanismes antioxydants envers le radical hydroxyle ont été impliqués ; l'un consistant à supprimer la production du radical hydroxyle et l'autre à piéger directement le radical hydroxyle. Le premier était lié à la transition des ions métalliques car le peroxyde d'hydrogène est relativement stable en l'absence d'ions de métaux de transition (Zhang et *al.*, 2011). Des études antérieures ont montré également que le mécanisme par lequel les flavonoïdes diminuent la production des radicaux hydroxyles semble être un mélange de chélation de fer libre (Soucek et *al.*, 2011) et de piégeage direct des radicaux hydroxyles (Frémont et *al.*, 1999).

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des principes actifs doués de plusieurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins qui sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

Notre étude a été consacrée au dosage de quelques composés phénoliques et à l'étudie de l'activité antioxydante des extraits obtenus à partir des feuilles de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et les tubercules d'*Arum italicum*. Ces trois plantes sont largement utilisées en pharmacopée traditionnelle dans la région de Jijel. Cette étude a également permis de montrer l'effet du solvant d'extraction sur la teneur des composés dosés ainsi que sur leur activité antioxydante.

Les procédés d'extraction utilisés nous a permis de retenir trois extraits aqueux et trois extraits éthanoliques. Le dosage des différents composés phénoliques montre que nos échantillons sont relativement riches en polyphénols totaux, en tannins hydrolysables et pauvres en flavonoïdes. Les teneurs de ces composés dans les extraits analysés diffèrent d'une plante à une autre : *Thymus vulgaris* est la plus riche suivi par *Cynoglossum creticum* et *Arum italicum*.

L'étude de l'activité antioxydante des différents échantillons par plusieurs méthodes ; piégeage du radical libre ABTS et le radical hydroxyle, la réduction du fer et le blanchissement du β-carotène, a montré que tous les extraits possèdent une activité antioxydante plus ou moins importante *in vitro* en fonction de la concentration et de la nature des composés phénoliques. Les résultats indiquent que les deux extraits de *T. vulgaris* et de *C. creticum* présentent des activités antioxydantes intéressantes *vis-à-vis* à toutes les techniques testées par rapport aux extrait d'*A. italicum* qui a montré des activités faibles.

Par conséquent, on conclut qu'il y a une forte relation entre la teneur en composées phénoliques et l'activité antioxydante : les extraits les plus riches en composés phénoliques exercent les effets antioxydants les plus puissants. Alors cette coordinance confirme que l'activité antioxydante des extraits étudiés est due principalement à leur composition phénolique. Ceci valide l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelles et ainsi aiderait à valoriser ces plantes dans le domaine de la médecine moderne.

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constituent bien évidemment qu'une première étape dans la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Et pour compléter cette étude, il serait souhaitable de :

- Elargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : anti-tumoral, anticancéreux et anti-inflammatoire.
- Analyser les extraits obtenus par des méthodes plus performantes telles que l'HPLC, CPG-SM, déterminer la composition exacte et les teneurs en principes chimiques des extraits et confirmer les résultats obtenus.
- Caractériser et isoler les principes actifs responsables à ces propriétés pharmacologiques.

-A-

Ababsa Z. (2009). Caracterisation pharmacotoxicologique et etude phytochimique de *Centaurea dimorpha*. Thèse de magistère. Université Mentouri (Constantine, Algérie).

Adwan G.M., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F. (2007). Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on Pseudomonas aeruginosa. *Turkish Journal of Biology*, **30** (4): 239-242.

Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007). Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, **74** (7): 636-643.

Ağalar H.G., Çiftçi G.A., Göger F., Kırımer N. (2017). Activity Guided Fractionation of *Arum italicum* Miller Tubers and the LC/MS-MS Profiles. *Records of Natural Products*, **12** (1): 64-75.

Agbor G.A., Jeo V.A., Patreck D.E. (2014). Folin-Ciocalteau Reagent for PolyphenoAssay. .*International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, **3** (8): 147-156.

Algeciras-Schimnich A., Cook W.J., Milz T.C., Saenger A.K., Karon B.S. (2007). Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical Biochemistry*, **40** (16-17): 1311-1316.

Ali M., Hahn E.J., Paek K.Y. (2007). Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, **12** (3): 607- 621.

Ali N.A., Julish W.D., Kusunick C., Lindesquist U. (2001). Screening of Yamani medicinal plant for antibacterial and cytotoxic activities**.** *Journal of enthnopharmacology*, **74** (2): 173-179.

Amarowicz R., Estrella I., Hernández T., Robredo S., TEROzynska A., Kosinska A., Pegg R.B. (2010). Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food chemistry*, **121**: 705-711.

Amarowicz R., Janiak M. (2019). Hydrolysable Tannins. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 337-343.

Amiot J. (2005). *Thymus vulgaries*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l´écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure d´Agronomie (montpellier, France).

Anitha M., Sakthidevi G., Muthukumarasamy S., Mohan V.R. (2012). *In vitro* antioxydant potential of *Cynoglossum zeylanicum* (Vahl ex Hornem) Thunb. ex Lehm. Boraginaceae. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, **3**: 53-59.

Anonyme. (2003). Weed Management Guide-Blue Hound's Tongue- *Cynoglossum creticum*. CRC for Australian Weed Management and the Common wealth, Department of the Environment and Heritage, Canberra (Australia) ISBN 1-920932-22-4.

Anonyme. (2011). Guide illustré de la Flore Algérienne, W. d'Alger & Mairie de Paris, N° ISBN : 978-2-7466-4242-3, 95p.

Aouinti F., Zidane H., Tahri M., Wathelet J.P., El Bachiri A. (2014). Chemical composition, mineral contents and antioxydant activity of fruits of Pistacia lentiscus L. from Eastern Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, **5** (1): 199- 206.

Aslan A., Güllüce M., Sökmen M., Adıgüzel A., Sahin F., Özkan H. (2006). Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricata*, *Evernia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharmaceutical biology*, **44** (4): 247-252.

Atefeibu E.S.I. (2002). Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'Acacia nilotica var andesonii. Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop (Dakar, Sénégal).

Atha D., Boom B., Thornbrough A., Kurtz J., Mcintyre L., Hagen M., Schuler J.A., Rohleder L., Hewitt S.J., Kelly J. (2017). *Arum italicum* (Araceae) is invasive in New York. *Phytoneuron*, **31**: 1-18.

Attard E., Pacioni P. (2012). The phytochemical and *in vitro* pharmacological testing of Maltese Medicinal Plants, *In Bioactive Compounds in Phytomedicine*, IntechOpen.

Auger C., Schini-Kerth V.B. (2014). Potentiel des polyphénols à améliorer la protection vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Cahiers de nutrition et de diététique*, **49** (4): 160-172.

-B-

Baghiani A., Boumerfeg S., Belkhiri F., Khennouf S., Charef N., Harzallah D., Arrar L., Abdel-Wahhab M.A. (2010). Antioxidant and radical scavenging properties of *Carthamus caeruleus* L extracts grow wild in Algeria flora. *Comunicata scientiae*, **1**: 128-136.

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunete C., Dine T., Vasseur J., Gazin J.C. (1996). Oxigen species scavenging activity of phenolic extract from howthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittel-Forschung*, **46** (11): 1086-1089.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, **99** (1): 191-203.

Balladin D.A., Headley O. (1999). Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*, **17** (4): 523-531.

Ballester-Costa C., Sendra E., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J., Viuda-Martos M. (2017). Assessment of Antioxidant and antibacterial properties on meat homogenates of essential oils obtained from four thymus species achieved from organic growth. *Foods*, **6**(8): 59.

Banerjee P., Mukherjee S., Bera K., Ghosh K., Ali I., Khawas S., Ray B., Ray S. (2019). Polysaccharides from Thymus vulgaris leaf: Structural features, antioxidant activity and interaction with bovine serum albumin. *International journal of biological macromolecules*, **125**: 580-587.

Barbier, Mathez. (1973). En fonction des antécédents. Candollea 28:306 Edition: librairie Moderne, Presse Med 1999, 195p.

Bartosz G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on toxicology*, **9** (1): 5-21.

Benabed H.K., Gourine N., Ouinten M., Bombarda I., Yousfi M. (2017). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Three Algerian Lamiaceae Species. *Current Nutrition & Food Science*, **13**(2): 97-109.

Benkhnigue O., Zidane L., Fadli M., Elyacoubi H., Rochdi A., Duoira A. (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel ksiri (région du Gharb du Maroc). *Acta Botanica Barcinonensia*, **53**:191-216.

Bensaid I., Atik Bekkara F., El Haci I.A., Belarbi K., Beddou F., Bekhechi C. (2018). Identification and *in vitro* antioxidant activities of phenolic compounds isolated from *Cynoglossum cheirifolium* L. *Natural product research*, **32** (4): 481-485.

Berger M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, **20** (1): 48-53.

Bonnaille C., Salacs M., Vassiliova E., Saykova I. (2012). Etude de l'extraction des composes phénoliques à partir des pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L). *Revue de génie industriel*, **7**: 35-45.

Borneley S., Peyrat-Maillard M.N. (2000). Antioxidant activity of malt rootlet extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48** (7): 2785-2792.

Bougatef A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y., Nasri M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food chemistry*, **114**: 1198-1205.

Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., Abrini J. (2006). Thymus essential oils: chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. *Congrès international de biochimie*, **324**: 327.

Boussoualim N. (2014). Activités biologiques de plantes médicinales : *Anchusa azurea* Mill. et *Globularia alypum* L. Thèse de Doctorat. Universite Ferhat Abbas (Sétif, Algerie).

Bowe L.M. Yatskievych G. (2016). *Cynoglossum creticum* in North America Flora. *Lundellia*, **19** (1): 39-46.

Boyce P. (1993). The genus *Arum. A Kew Magazine monograph*. HMSO Publications Centre (London).

Browne R.W., Bloom M.S., Schisterman E.F., Hovey K., Trevisan M., Wu C., Liu A., Wactawski-Wende J. (2008). Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers*, **13** (2): 160-183.

Bruneton J. (1996). Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. *Lavoisier* (Paris), 529.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. **4ème ed.** Tec&Doc (Paris), 647.

Bubonja-Sonje M., Giacometti J., Abram M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food chemistry*, **127**: 1821-1827.

-C-

Canavy B., Didier J.C., Jacquelet F. (2014). Mieux vivre avec une maladie professionnelle. *Lulu Press*, 116.

Cano N., Barnoud D., Schneidre S.M., Vasson M.P., Hasselmann M., Leverve X. (2007). Traité de nutrition artificielle de l'adulte. **3ème éd**. *Springer Science & Business Media*, 254.

Castaldo S.A., Freitas J.R., Conchinha N.V., Madureira P.A. (2016). The tumorigenic roles of the cellular REDOX regulatory systems. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, (ID 8413032).

Castro L., Freeman B.A. (2001). Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*, **2** (17): 161-165.

Chandrasekara A. (2019). Phenolic Acids. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 535-545.

Chen L., HU J.Y., Wang S.Q. (2012). The role of antioxdants in photoprotection: a critical review. *Journal of American Academy of Dermatology*, **67** (5): 1013-1024.

Chun H., Shin D.H., Hong B.S., Cho H.Y., Yang H.C. (2001). Purification and biological activity of acidic polysaccharide from leaves of *Thymus vulgaris* L. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **24** (8): 941-946.

Chung Y.C., Chen S.J., Hsu C.K., Chang C.T., Chou S.T. (2005). Studies on the paraguayense. *Food chemistry*, **91**: 419-424.

Couplan F. (2009). Le régal végétal : plantes sauvages comestibles. *Ellebore*, 527.

Csiszár J., Horváth E., Bela K., Gallé Á. (2016). Glutathione-related enzyme system : glutathione reductase (GR), glutathione transferases (GSTs) and glutathione peroxidases (GPXs). *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses*. 137-158.

-D-

D'Alessandro L.G., Kriaa K., Nikov I., Dimitrov K. (2012). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*, **93**: 42-47.

Daoudi A., Bammou M., Haloui Z., Ibijbijen J., Nassiri L. (2017). Activité antifongique des extraits aqueux de *Calendula officinalis* L., *Urginea maritima* L. Baker et *Chenopodium ambrosioides* L. *European seintific journal*, **13**:1857-7881.

Deba F., Xuan T.D., Yasuda M., Tawat S. (2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oil from *Bidens pilosa* L. Var. Radiata. *Food Control*, **19** (4): 346-352.

Delteil L., Bréchet C., Fournier E., Leborgne M.C. (2012). Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. **3ième éd**. *Educagri* (Dijon), 113.

Díaz-Maroto M.C., Díaz-Maroto Hidalqo I.J., Sánchez-Palomo E., Pérez-Coello M.S. (2005). Volatile components and key odorants of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53** (13): 5385-5389.

Drögue W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, **82** (1): 47-95.

Duncan K.R., Suzuki Y.J. (2018). Vitamin E Nicotinate. *Antioxidants*, **6** (1): 20.

Durackova Z., Djrolo F., Houngbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. **In**: Mitochondrial medicine. **1ère éd**. *Gvozdjakova*, 19-4.

Durand G., Beaudeux J.L. (2011). Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. **2ème éd.** *Lavoisier Chantal Arpino*, 130-131.

-E-

Eddouks M., Ouahidi M.L., Farid O., Moufid A., Khalidi A., Lemhadri A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytotherapie*, **5** (4): 194-203.

El-Newary S.A., Shaffie M.N., Omer E.A. (2017). The protection of *Thymus vulgaris* leaves alcoholic extract against hepatotoxicity of alcohol in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 1-11.

Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, **68** (7): 939-953.

-F-

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus Biologies*, **331** (5): 372-379.

Farahmandfar R., Esmaeilzadeh K.R., Asnaashari M., Shahrampour D., Bakhshandeh T. (2019). Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of *Arum maculatum* leaves extracts as affected by various solvents and extraction methods. *Food science & nutrition*, **7** (2): 465-475.

Favier A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.

Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques*, **64** (6): 390-396.

Ferreira D., Slade D., Marais J.P.J. (2006). Flavans and Proanthocyanidins In: Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications, *CRC Press*, 553-616.

Fraga C.J., Oteiza P.I. (2011). Dietary flavonoids: role of epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, **51** (4): 813-823.

Frémont L., Belguendouz L., Delpal S. (1999). Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life sciences*, **64** (26): 2511-2521.

-G-

Ganesan K., Xu B. (2017)**.** Acritical review on polyphenols and health benefits of black soybeans. *Nutrients*, **9** (5): 455.

Georgé S., Brat P., Alter P., Amiot J.M. (2005). Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of agricultural and food chemistry*, **53** (5): 1370-1373.

Gião M.S., Pastana D., Faria A., Guimarães J.T., Pintado M.E., Calhau C., Azevedo I., Malcata F.X. (2010). Effects of extracts of selected medicinal plants upon hepatic oxidative stress. *Journal of Medicinal Food*, **13** (1): 131-136.

Goetz P., Ghédira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. *Springer Science & Business Media*, 394.

Grimm M.O., Mett J., Hartmann T. (2016). The impact of vitamin E and other fat-soluble vitamins on alzheimer´s disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **17** (11): 1785.

Group D.W. (2015). Encyclopedia of Mind Enhancing, Foods, Drugs and Nutritional Substances. **2ème éd**. *Mcfarland and Company* (North Carolina), 166.

Guettaf S., Abidli N., Kariche S., Bellebcir L., Bouriche H. (2016). Screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. & Dur). *Phytochemical pharmacia lettre*, **8**: 50-60.

Guillet- Pichon V., Verny C. (2016). Mitochondrie et maladies neurodégénératives. *Pratique Neurologique*, **7**: 117-122.

Gülçin İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11** (1):210-218.

Gupta M., Singh S. (2010). *Borago officinalis* Linn. an important medicinal plant of Mediterranean region : a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, ***5*** (1): 27-34.

Gurbuz I., Yesilada E., Ito S. (2009). An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology*, **121** (3): 360-365.

Gutteridge J.M., Halliwell B. (2000). Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **899** (1): 136-147.

-H-

Habashy N.H., Serie M.M.A., Attia W.E., Abdelgaleil S.A. (2018). Chemical characterization, antioxidant and anti-inflammatory properties of Greek Thymus vulgaris extracts and their possible synergism with Egyptian Chlorella vulgaris. *Journal of Functional Foods*, **40**: 317-328.

Hammiche V. (2015). Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle. *Phytothérapie*, **13** (6): 358-372.

Heim E.K., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002). Flavonoïds antioxydants: chemistry; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: 572-584.

Hodgson J.M., Croft K.D. (2010). Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, **31** (6): 495-502.

Hokayem M., Bisbal C., Lambert K., Avignon A. (2012). Quelle place pour les antioxydants dans la prévention du diabète de type 2 ?. *Médecine des maladies Métaboliques*, **6** (4): 327- 331.

https://www.uniprot.org/taxonomy/491974 .2019.

Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A., Latif S., Sherazi S. T., Ahmad A., Sarker S.D. (2013). Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two Thymus species from the Pakistani flora. *LWT-Food Science and Technology*, **50** (1) : 185-192.

-I-

Iserin P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. **2ème éd**. Larousse (Londres), 225-226.

-J-

Jaradat N.A., Abualhasan M. (2016). Comparison of phytoconstituents, total phenol contents and free radical scavenging capacities between four Arum species from Jerusalem and Bethlehem. *Pharmaceutical Sciences*, **22** (2): 120.

Jauniaux E., Burton G.J. (2016). Le rôle du stress oxydant dans les pathologies placentaires de la grossesse. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, **45** (8): 775-785.

Jomova K., Valko M. (2011). Free Radicals, Signal Transduction, and Human Disease. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates*, 17-32.

-K-

Kabel A.M. (2014). Free Radicals and Antioxidants: role of enzymes and nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*, **2** (3): 35-38.

Kazeem M.I., Ashafa A.O.T., Nafiu M.O. (2015). Biological activities of three Nigerian spices-Laurus nobilis Linn, *Murraya koenigii* (L) *Spreng* and *Thymus vulgaris* Linn. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **14** (12): 2255-2261.

Kholkhal F. (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de Doctorat. Universite Abu Bekr Belkaid (Tlemcen, Algerie).

Kirkwood J.S., Lebold K.M., Miranda C.L., Wright C.L., Miller G.W., Tanguay R., Stevens J. F. (2012). Vitamin C deficiency activates the purine nucleotide cycle in zebrafish. *Journal of Biological Chemistry*, **287** (6): 3833-3841.

Kirschvink N., de Moffarts B., Lekeux P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*, **177** (2): 178-191.

Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A. (2004). A new hydroxyjasmone glucoside and its related compounds from the leaf of thyme. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **52** (8): 1013-1014.

Koleva I.I., Van Beek T.A., Linssen J.P.H., de Groot A., Evstatieva L.N. (2002) Screening of plant extracts for antioxidant activity : a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, **13**: 8-17.

Kozuharova E., Kochmarov V., Kachaunova E., Espíndola A., Aleksandrov B., Mincheva I. (2014). Distribution of *Arum* (Araceae) in Bulgaria. *Version of Record published online*, **24**: 51-62.

Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K., Bakrouf A., Magné C., Abdelly C. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and chemical toxicology*, **47**: 2083-2091.

Kuhn M.A., Winston D. (2012). Winston & Kuhn's herbal therapy and supplements: A scientific and traditional approach. **2ème ed**. *Lippincott Williams & Wilkins*, 560.

Kulšic T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. (2006). Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technology and Biotechnology*, **44** (4): 485-492.

Kumar S., Pandey A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 1-16.

Kumarappan C.T., Thilagam E., Mandal S.C. (2012). Antioxidant activity of polyphenolic extracts of Ichnocarpus frutescens. *Saudi journal of biological sciences*, **19**: 349-355.

Kurutas E.B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/ nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, **15** (1): 71.

Ky I., Le Floch A., Zeng L., Pechamat L., Jourdes M., Teissedre P.L. (2016). Tannins. *Encyclopedia of Food and Health*, 247-255.

-L-

Laliberte J., Labbe S. (2008). The molecular bases for copper uptake and distribution: lessons from yeast. *Medecine Sciences*, **24** (3): 277-283.

Lamien-Meda A., Lamien C., Compaoré M., Meda R., Kiendrebeogo M., Zeba B., Nacoulma O. (2008). Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Molecules*, **13** (3): 581-594.

Le Bourvellec C., Renard C.M.G.C. (2019). Interactions between polyphenols and macromolecules: Effect of Tannin Structure. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 515-521.

Lehtinen P., Laakso S. (1998). Effect of extraction conditions on the recovery andpotency of antioxidants in O at fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46** (12): 4842-4845.

Leverve X. (2009). Stress oxydant et antioxydants. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **44** (5): 219-224.

Li H., Wang X., Li Y., Li P., Wang H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food chemistry*, **112**: 454-460.

Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F., Jiang Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, **102** (3): 771-776.

Liu J., Jia L., Kan J., Jin C.H. (2013). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and chemical toxicology*, **51**: 310-316.

Liyana-Pathirana C.M., Shahidi F. (2006). Antioxydant propreties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivium* L.) and their milling fractions. *Journal of the science of food and agriculture*, **86**: 477-485.

Loft S., Møller P., Cooke M.S., Rozalski R., Olinski R. (2008). Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker. *European Journal of Nutrition*, **47** (2): 19-28.

Lu S.C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **1830** (5): 3143-3153.

Luximon-Ramma A., Bahorun T., Soobrattee M.A., Aruoma O.I. (2002). Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ***50*** (18): 5042-5047.

-M-

Makhloufi A. (2013). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat. Université Aboubaker Belkaid (*Tlemcen,* Algerie).

Mandal S.M., Chakraborty D., Dey S. (2010). Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling and Behavior*, **5** (4): 359-368.

Marreiro D., Cruz K., Morais J., Beserra J., Severo J., de Oliveira A. (2017). Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms. *Antioxidants*, **6** (2): 24.

Maurya R., Yadav D.K., Singh G., Bhargavan B., Murthy P.N., Sahai M., Singh M.M. (2009). Osteogenic activity of constituents from Butea monosperma. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **19** (3): 610-613.

Mbiantcha M., Kamanyi A., Teponno R.B., Tapondjou A.L., Watcho P., Nguelefack T.B. (2011). Analgesic and anti-inflammatory properties of extracts from the bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. var sativa (Dioscoreaceae) in mice and rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.

Médart J. (2009). Manuel pratique de nutrition : l'alimentation préventive et curative. **2ème éd**. *Boeck Supérieur*, 51-52.

Mena S., Ortega A., Estrela J.M. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **674** (1-2): 36-44.

Mialocq P., Oiry J., Puy J.Y., Rimaniol A.C., Imbach J.L., Dormont D., Clayette P. (2001). Métabolisme oxydatif dans les macrophages infectés par le VIH : rôle du glutathion et approche pharmacologique. *Pathologie- Biologie*, **49** (7): 567-571.

Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, **52** (4): 673-751.

Migdal C., Serres M. (2011). Reactive oxygen species and oxidative stress. *International Journal of Medical Sciences*, **27** (4): 405-412.

Miller H.E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **48** (2): 91.

Mole S., Waterman P.G. (1987). A critical analysis of techniques of measuring tamnius in ecological studies. Techniques of biochemically defining tamnius. *Oecologia*, **72**: 148-156.

Moon J. K., Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, **57**(5): 1655-1666.

Morales R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. **In**: the genus *Thymus*. Taylor & Francis (London), 1-43.

-O-

Omnes M.H., Le Goasduff J., Le Delliou H., Le Bayon N., Quazuguel P., Robin J.H. (2017). Effects of dietary tannin on growth, feed utilization and digestibility, and carcass composition in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture Reports*, **6**: 21-27.

Omodanisi E., Aboua Y., Oguntibeju O. (2017). Assessment of the anti-hyperglycaemic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the methanol extract of Moringa oleifera in diabetes-induced nephrotoxic male Wistar rats. *Molecules*, **22** (4): 439.

Ozen T. (2009). Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (Watercress) leaf extracts. *Acta poloniae pharmaceutica-drug research*, **66**: 187-193.

-P-

Padrini F., Lucheroni M.T. (1996). Le grand livre des huiles essentielles Guide pratique pour retrouver vitalité bien-être et beauté avec les essences et l'aromomassage énergétique avec plus de 100 photographies. *De Vecchi*, 15.

Paris M., Hurabielle M. (1981). Abrégé de matière médicale, Pharmacognosie, Tome 1, *Masson* (Paris), 102-107.

Patomo D.A. (2006). Phytochimie et activités biologiques de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel des infections sexuellement transmissibles (ist) au Mali : *Anthocleista djalonensis* A. Chev. (*Loganiaceae*), *Erythrina senegalensis* DC. (*Fabaceae*) et *Heliotropium indicum* L. (*Borraginaceae*). Thèse de Doctorat. Universite de Bamako (Bamako, Mali)**.**

Perron N.R, García C.R, Pinzón J.R, Chaur M.N. Brumaghim J.L. (2011). Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *Journal of inorganic biochemistry*, **105** (5): 745-753.

Peter K.V. (2004). Handbook of herbs and spices.**1ier ed.** *Elsevier*, 376.

Pieme C.A., Tatangmo J.A., Sismo G., Nya P.C.B., Moor V.J.A., Moukette B. M., Sobngwi E. (2017). Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. *BMC Research Notes*, **10** (1):141.

Popovici C., Saykova I., Tylkowskib. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4): 1-8.

Powers S.K., Jackson M.J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, **88** (4): 1243-1276.

Powers S.K., Smuder A.J., Kavazis A.N., Hudson M.B. (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, **20** (1): 2-14.

Poyrazoğlu E., Gökmen V., Artk N. (2002). Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, **15** (5): 567-575.

Prouillac C. (2009). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat, Université Panl Sabatier Toulouse III.

- Q-

Quattrocchi U. (2016). CRC world dictionary of medicinal and poisonous plants: common names, scientific names, eponyms, synonyms, and etymology. *CRC press Taylor and Francis Group*, 428.

Queen B.L., Tollefsbol T.O. (2010). Polyphenols and Aging. *Current Aging Science*, **3** (1): 34-42.

-R-

Rajendran P., Nandakumar N., Rengarajan T., Palaniswami R., Gnanadhas E.N., Lakshminarasaiah U., Gopas J., Nishigaki I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinical chemical acta*, **436**: 332-347.

Ramchoun M., Harnafi H., Alem C., Büchele B., Simmet T., Rouis M., Atmani F., Amrani S. (2012). Hypolipidemic and antioxidant effect of polyphenol-rich extracts from Moroccan thyme varieties. *e-SPEN Journal*, **7** (3) : 119-124.

Rao C.V. (2004). Nitric oxide signaling in colon cancer chemoprevention. *Mutation Research*, **555** (1-2): 107-119.

Rao S.P., Kalva S., Yerramilli A., Mamidi S. (2011). Free radicals and tissue damage: role of antioxidants. *Free radicals and antioxidants*, **1** (4): 2-7.

Rastija V., Medic-Saric M. (2009). QSAR study of antioxidant activity of wine polyphenols. *European journal of medicinal chemistry*, **44**: 400-408.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay free radical. *Biology and Medicine*, **26**: 1231-1237.

Redondo L.M., Chacana P.A., Dominguez J.E., Fernandez Miyakawa M.E.D. (2014). Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *Frontiers in microbiology*, **5**: 118.

Ribeiro S.M.R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knodler M., Schieber A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, **110**: 620-626.

Ribéreau-Gayon P., Gautheret R.J. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. *Dunod* (Paris), 254.

Roberfroid M.B., Coxam V., Delzenne N.M. (2008). Aliments fonctionnels. **2ème éd**. *Lavoisier TEC & DOC*, 209-215.

Rodriguez-Bernaldo A.Q.F.S., Frecha P.A., Vidal., Lopez H.J. (2010). Antioxydant compounds in edible brown seweeds. *European Food Research & Technology*, **231** (3): 495-498.

Roussel A.M. (2009). Qui manque d'antioxydants, et comment le savoir ? *Cahiers de nutrition et de diététique*, **44** (5): 230-236.

Ruch R.J., Cheng S.J., Klaunig J.E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, **10** (6): 1003-1008.

Ryan M.T., Muller H., Pfanner N. (1999). Functionalstaging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, **274** (29): 20619-20627.

-S-

Salik S., Alpinar K., Imre S. (2002). Fatty acid composition of the seed oil of *Arum italicum* Miller. *Journal of Food Lipids*, **9** (2): 95-103.

Sankari S.L., Babu N.A., Rani V., Priyadharsini C., Masthan, K.M.K. (2014). Flavonoids-clinical effects and applications in dentistry: A review. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, **6** (1): 26-29.

Sayre L.M., Moreira P.I., Smith M.A., Perry G. (2008). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, **41** (2): 143-164.

Seleem D., Pardi V., Murata R.M. (2017). Review of flavonoids : A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans activity in vitro. *Archives of Oral Biology*, **76**: 76-83.

Sharma S., Sheehy T., Kolahdooz F., Barasi M. (2015). Nutrition at a Glance. **2ème ed.** *Wiley Backwell*, 162.

Singh A. (2011). Herbalism, phytochemistry and ethnopharmacology. *CRC Press*, 440.

Siti H.N., Kamisah Y., Kamsiah J. (2015). The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular pharmacology*, **71**: 40-56.

Smirnoff N., Cumbes Q.J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, **28** (4): 1057-1060.

Soares S., García-Estévez I., Ferrer-Galego R., Brás N.F., Brandão E., Silva M., Teixeira N., Fonseca F., Sousa S.F., Ferreira-da-Silva F., Mateus N., de Freitas V. (2018). Study of human salivary proline-rich proteins interaction with food tannins. *Food Chemistry*, **243**: 175-185.

Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M., Sahin F. (2004). The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, **15** (8): 627-634.

Solari-Godiño A., Pérez-Jiménez J., Saura-Calixto F., Borderías A.J., Moreno H.M. (2017). Anchovy mince (Engraulis ringens) enriched with polyphenolrich grape pomace dietary fibre : *In vitro* polyphenols bioaccessibility, antioxidant and physico-chemical properties. *Food Research International*, **102**: 639-646.

Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodriguez J.F., Estarron-Espinosa M., Garcia-Fajardo J.A., Obledo-Vazquez E.N. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *-E-Gnosis*, **4** (16).

Soucek P., Kondrová E., Hermanek J., Stopka P., Boumendjel A., Ueng Y.F., Gut I. (2011). New model system for testing effects of flavonoids on doxorubicin-related formation of hydroxyl radicals. *Anti-cancer drugs*, **22** (2): 176-184.

Speckmann B., Steinbrenner H., Grune T., Klotz L.O. (2016). Peroxynitrite : From interception to signaling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **595**: 153-160.

Spector R., Johanson C.E. (2014). The nexus of vitamin, homeostasis and DNA synthesis and modification in mammalian brain. *Molecular Brain*, **7** (1): 3.

Starlin T., Gopalakrishnan V.K. (2013). Enzymatic and non-enzymatic antioxidant properties of Tylophora pauciflora wight and arn:an in vitro study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **6** (4): 68-71.

Stocker R., Keaney J.F. (2004). Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiological Reviews*, **84** (4): 1381-1478.

Subsamanian S., Stacey G., Yu O. (2007). Distinct crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends in plant science*, **12** (7): 282-285.

Suhartono E., Viani E., Rahmadhan M.A., Gultom I.S., Rakhman M.F., Indrawardhana D. (2012). Total flavonoid and antioxidant activity of some selected medicinal plants in South Kalimantan of Indonesian. *APCBEE Procedia*, **4**: 235-239.

-T-

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, **90**: 333-340.

Tiwari S. (2008). Plants: a rich source of herbal medicine, *Journal of Natural Products*, **1**: 27-35.

Torres De Pinedo A., Pen alver P., Morales J.C. (2007) Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure-activity relationship. *Food Chemistry*, **103**: 55-61.

-V-

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functionand human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39** (1): 44-84.

Valko M., Rhodes C., Moncol J., Izakovic M.M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160** (1): 1-40.

Van Acker S.A., Tromp M.N., Griffioen D.H., Van Bennekom W.P., Van Der Vijgh W.J., Bast A. (1996). Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, **20** (3): 331-342.

Villasante A., Araneda O.F., Behn C., Galleguillos M., Adarmes H. (2010). Antioxidant capacity and oxidative damage determination in synovial fluid of chronically damaged equine metacarpophalangeal joint. *Veterinary Research Communications*, **34** (2): 133-141.

Viuda-Martos M., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J.A. (2010). Pomegranate andits Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **9** (6): 635-654.

Von Gadow A., Joubert E., Hanssmann C.F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea and furochromones. *Phytochemistry*, **18**: 139-143.

-W-

Watrelot A.A., Schulz D.L., Kennedy J.A. (2017). Wine polysaccharides influence tannin-protein interactions. *Food Hydrocolloids*, **63**: 571-579.

Winterbourn C.C. (2015). Are free radicals involved in thiol based redox signaling?. *Free radical biology and medicine*, **80**: 164-170.

Wu J.Q., Kosten T.R., Zhang X.Y. (2013). Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, **46**: 200-206.

-Y-

Yakhlef G. (2013). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. thèse de Doctorat. Université El Hadj Lakhdar (Batna, Algerie).

Yang R.Y., Lin S., Kuo G. (2008). Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, **17** (S1): 275-279.

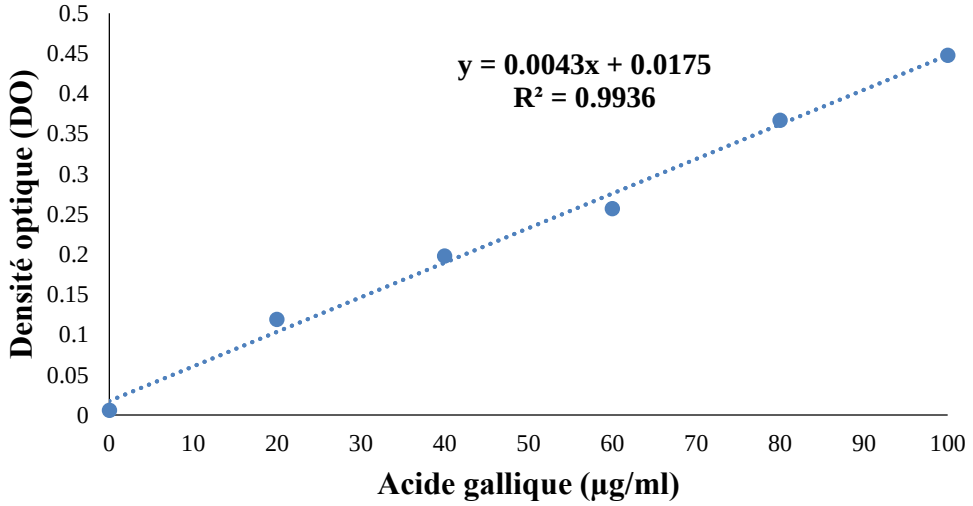
Yuan S., Zhang Y., Liu J., Zhao Y., Tan L., Liu J., Wang Q., Zhang H. (2019). Structure-affinity relationship of the binding of phenolic acids and their derivatives to bovine serum albumin. *Food Chemistry*, **278**: 77-83.

-Z-

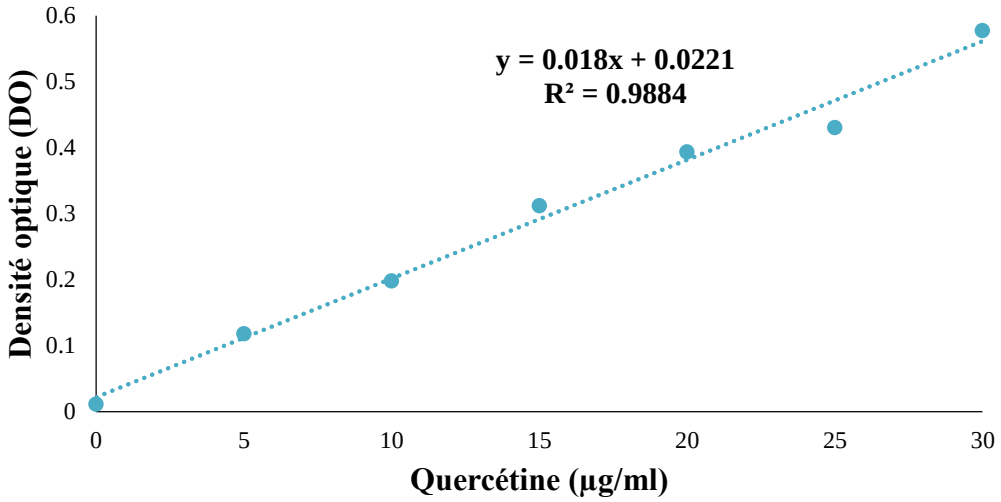
Zemmouri H., Ammar S., Boumendjel A., Messarah M., El Feki A., Bouaziz M. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria. *Arabian Journal of Chemistry*.

Zhang L., Li Y., Liang Y., Liang K., Zhang F., Xu T., Wang M., Song H., Liu X., Lu B. (2019). Determination of phenolic acid profiles by HPLC-MS in vegetables commonly consumed in China, *Food Chemistry*, **276**: 538-546.

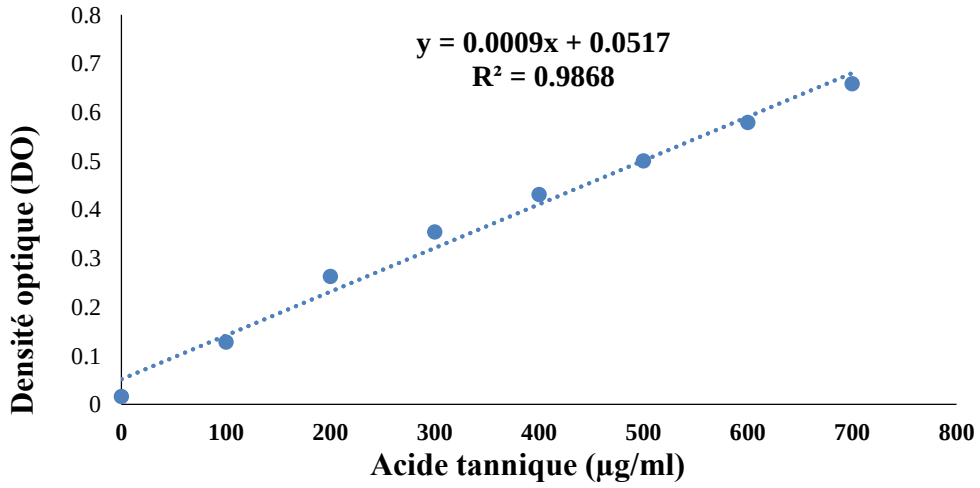
Zhang Y., Lu X., Fu Z., Wang Z., Zhang J. (2011). Sulphated modification of a polysaccharide obtained from fresh persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit and antioxidant activities of the sulphated derivatives. *Food chemistry*, **127** (3): 1084-1090.



Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique λ=765 nm (la moyenne de trois essais).



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine λ=430 nm (la moyenne de trois essais).



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique λ=660 nm (la moyenne de trois essais).

Analyse bibliographique

Matériel et méthodes

Résultats et discussion

Références bibliographiques

Annexe

تم بحمد الله

Réalisé par :
Boukerika Samira
Boumimez Sabah
Hariti Souaâd

Encadré par :
Mme. Rezzagui Abir

Activité antioxydante de *Thymus vulgaris* L., *Cynoglossum creticum* Mill. et d'*Arum italicum* Mill. de la wilaya de Jijel (étude *in vitro*)

Résumé

Les plantes médicinales présentent une source importante des différents antioxydants qui peuvent minimiser les effets néfastes des radicaux libres sur l'organisme humain. La présente étude est réalisée dans le but de quantifier les composés phénoliques et d'évaluer les propriétés antioxydantes des extraits aqueux et éthanoliques des feuilles de *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* et les tubercules d'*Arum italicum*. L'extrait TE semble être le plus riche en polyphénols totaux (89.70 ± 2.90 mg EAG/g) et en tannins hydrolysables (107.20 ± 1.60 mg EAT/g) suivit de TA, CE, CA, AE et AA. Tous les extraits ont révélé un effet scavenger variable envers les radicaux libres ($ABTS^{+\bullet}$ et $OH^{\bullet}$), dont l'IC_{50} varie entre 11.23 ± 1.82 µg/ml et 48.86 ± 1.92 µg/ml pour le radical $ABTS^{+\bullet}$ et 24.21 ± 0.33 µg/ml et 67.02± 1.83 µg/ml pour le radical $OH^{\bullet}$, à l'exception des extraits d'*A. italicum* où l'effet anti-radicalaire parait très faible. Le meilleur pouvoir réducteur est enregistré pour l'extrait TA (EC_{50} = 50.28 ± 0.93 µg/ml) alors que le plus faible est obtenu par l'extrait AA (EC_{50} = 400.75 mg ± 54.38 µg/ml). L'inhibition du blanchiment du β-carotène est relativement faible, dont le pourcentage d'inhibition est compris entre 56.51 ± 2.11 % (TE) et 15.49 ± 0.90 % (AA). En effet, ces plantes peuvent être considérées comme une importante source d'antioxydants naturels qui peuvent assurer la neutralisation des radicaux libres et par conséquence la prévention de diverses maladies.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum*, *Arum italicum*, polyphénols, tannins hydrolysables, flavonoïdes, activité antioxydante, $ABTS^{+\bullet}$, $OH^{\bullet}$, pouvoir réducteur, β-carotène.

ملخص

تعتبر النباتات الطبية من أهم مصادر مضادات الأكسدة والتي بإمكانها أن تمنع الآثار الضارة للجذور الحرة على جسم الإنسان بصفة طبيعية وآمنة. أجريت هذه الدراسة بهدف قياس محتوى المركبات الفينولية وتقييم الخاصية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية وكذا الإيثانولية لأوراق *Thymus vulgaris*، *Cynoglossum creticum* ودرنات *Arum italicum*. وجدنا أن المستخلص TE هو الأكثر ثراء من ناحية عديدات الفينول (89.70 ± 2.90 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من المستخلص) والتانينات (107.20 ± 1.60 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من المستخلص) يليه بقية AE، CA، CE، TA و AA. أبدت جميع المستخلصات تأثيرا نسبيا في ازاحة جذري $ABTS^{+\bullet}$ و$OH^{\bullet}$ حيث تراوحت قيم IC_{50} بين 11.23 ± 1.82 ميكروغرام/مل و343.2 ± 7.29 ميكروغرام/مل بالنسبة لجذر $ABTS^{+\bullet}$ وبين 24.21 ± 0.33 ميكروغرام/مل و143.43 ± 5.02 ميكروغرام/مل بالنسبة لجذر $OH^{\bullet}$. تم تسجيل أفضل قدرة إرجاعية للحديد بالنسبة لـ TA حيث كانت قيمة الـ EC_{50} 50.28 ± 0.93 ميكروغرام/مل بينما بلغت أضعف قيمة 400.75 ± 54.38 ميكروغرام/مل بالنسبة لـ AA. أما فيما يخص تثبيط إبيضاض جزيئات الـ β-carotène، فقد لوحظت أعلى قدرة باستعمال مستخلص TE بنسبة تثبيط قدرت ب 56.51 ± 2.11 % بينما اخفض قيمة تثبيطية تم تسجيلها لمستخلص AA بنسبة 15.49 ± 0.90 %. واستنادا إلى هذه النتائج، يمكننا اعتبار هذه النباتات مصدرا معقولا لمضادات الأكسدة الطبيعية للوقاية من الآثار الجانبية للجذور الحرة والأمراض المختلفة المترتبة عنها.

الكلمات المفتاحية : *Thymus vulgaris*، *Cynoglossum creticum*، *Arum italicum*، عديدات الفينول، التانينات، الفلافونويدات، النشاط مضاد للأكسدة، β-carotène، قدرة إرجاعية، $ABTS^{+\bullet}$، $OH^{\bullet}$.

Abstract

Medicinal plants are an important source of antioxidants that can inhibit the harmful effects of free radicals on the human body. This study was undertaken to quantify the phenolic content and to evaluate the antioxidant properties of aqueous and ethanolic extracts from the leaves of *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum* and *Arum italicum* tubers. TE extract contain the highest amount of polyphenols (89.70 ± 2.90 mg EAG/g extract) and hydrolysable tannins (107.20 ± 1.60 mg EAT/g extract) followed by TA, CE, CA, AE and AA. All extracts revealed a relative scavenger effect against $ABTS+^{\bullet}$ and $OH^{\bullet}$ free radicals, with IC_{50} ranging from 11.23 ± 1.82 µg/ml to 343.2 ± 7.29 µg/ml for the $ABTS^{+\bullet}$ radical and 24.21 ± 0.33 µg/ml and 143.43± 5.02 µg/ml for $OH^{\bullet}$ radical. The best reducing power was recorded for TA extract with an EC_{50} equal to 50.28 ± 0.93 µg/ml and the lowest for AA extract with EC_{50} = 400.75 ± 54.38 µg/ml. The highest inhibition of β-carotene bleaching was noted with TE extract (56.51 ± 2.11%) whereas the lowest was marked by the AA extract with (15.49 ± 0.90 %). Indeed, these plants can be considered as an excellent source of natural antioxidants for the prevention of various diseases.

Key words: *Thymus vulgaris*, *Cynoglossum creticum*, *Arum italicum*, polyphenols, hydrolysable tannins, flavonoids, antioxidant activity, $ABTS+^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$, reducing power, β-carotene.