

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR – KHENCHELA



Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique

Filière : science nature de la vie

Spécialité : biochimie appliquée

Thème:

**Etudes phytochimiques et activités biologiques de deux
plantes médicinales *Thymus vulgaris L* et *Rosmarinus
officinalis L***

Présenté et soutenu par :

- KHALLOUT Rawya
- AGHROU Lemya
- GHALMI Moufida

Membre du jury:

Présidente: BOUTARFA Soumia

M.A.A. université de Khenchela

Encadreur : MAYOUF Nozha

M.C.B. Université De Khenchela

Examinatrice : ARAB Yasmine

M.A.A. université de Khenchela

Année Universitaire

2021/2022

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah pour nous avoir donné la santé, la volonté, la force, le courage, et la puissance, pour pouvoir surmonter les moments difficiles, et atteindre nos objectifs et sans les quels notre projet n'aurait pas pu voir la lumière du jour

Nous remercions infiniment tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce projet plus particulièrement :

*Notre promoteure **Mme Mayouf Nozha** de nous Avoir orienté Significativement tout au long de ce Travail, nous remercions l'ensemble des **membres du jury** en particulière mademoiselle la présidente **Boutarfa Soumia** pour avoir acceptée de présider et juger ce travail de master aussi nous remercions **Madame Arab Yasmine** pour l'intérêt porté à notre travail.*

Nous remercions aussi les vendeurs d'herbes médicinales

*Mes profonds remerciement à nos parents de nous Avoir soutenu moralement et financièrement
Durant ces longues années.*

Merci aussi à nos professeurs à qui nous exprimons tout notre respect et profonde gratitude

Dédicace

Je suis heureuse de dédier ce travail à tous ceux qui me sont chers,

À ma mère, que Dieu ait pitié d'elle et à mon père, que Dieu le préserve,

À mon mari et mes enfants Rouèya, Tahaa et Noursine

À mes frères et mes sœurs

Moufida

Dédicace

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

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

Aux personnes les plus chères au monde :

Mon père Hamoudi et Ma mère Yamina, qui sont la lumière de mes yeux, Pour votre amour, votre affection Votre soutien constant, Et sans qui je ne serais pas arrivée jusqu'ici. Recevez ici ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices.

À ma moitié ma sœur Abir

A ma petite Angel Wafa

A mon seul frère mon héros Zakaria

A mes chères amies pour la grande affection Et l'amour et pour tous les moments qu'on a partagés. Je vous souhaite une florissante santé, un prospère avenir et une vie couronnée de succès

*À Mon encadreuse **Mayouf Nozha** pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour leur modestie, leur générosité et leur encouragement*

À toute la famille AGHROU.

Lemya

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents.

Ma plus profonde gratitude et tout mon amour pour leurs soutiens tout au long de mes études.

A mes sœurs et leurs enfants,

A mon frère

*À Mon encadreuse **Mayouf Nozha** pour son dévouement exemplaire et ses conseils constructifs, pour leur modestie, leur générosité et leur encouragement*

Ainsi qu'à toutes mes amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.

Rawya

Résumé

Rosmarinus officinalis .L et *Thymus vulgaris .L* sont des plantes aromatiques et médicinales qui caractérisent des lieux arides de la région méditerranéenne. Ces plantes sont très utilisées traditionnellement pour ces vertus thérapeutiques. Nous avons intéressé dans ce travail à l'évaluation des teneurs en composés phénoliques et les propriétés antioxydants de l'extrait aqueux de la plante *Thymus vulgaris et Rosmarinus officinalis .L*. Détermination des quantités des polyphénols et flavonoïdes a montré que l'extrait aqueux de la plante *Thymus. Vulgaris* est très riche en poly phénols ($118,75 \pm 0,1$ 6mgEAG/g) et flavonoïdes respectivement ($42,01 \pm 0,004$ mg ER/g). L'étude in vitro de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a montré que l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris.L et Rosmarinus officinalis .L* possède une grande capacité de piéger le radical DPPH avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 0.215 ± 0.035 µg/ml et 0.015 ± 0.0035 µg/ml. Le piégeage du radical hydroxyle (OH) est basé sur la capacité des substances à piéger le radical hydroxyle est souvent évaluée par le pourcentage d'inhibition de la réaction du radical OH. L'évaluation in vitro de l'activité anti-inflammatoire des extraits des deux plantes par la méthode d'inhibition de dénaturation des protéines a montré que les deux extraits aqueux ont une activité anti-inflammatoire importante. Les plantes médicinales *Thymus vulgaris .L* et *Rosmarinus officinalis .L* sont riche en métabolites secondaires qui possèdent des activités anti oxydantes et anti inflammatoires importantes, ces derniers ont un rôle bénéfique pour la santé grâce à la protection contre les vieillissements, réduisent les risques de cancers et de maladies cardio-vasculaires.

Mots clés : polyphénol, flavonoïdes, *Thymus vulgaris*, dénaturation.

Abstract

Rosmarinus officinalis L and *Thymus vulgaris L* are aromatic plants and medicinal properties that characterize arid places in the Mediterranean region. These plants are widely used traditionally for these therapeutic virtues. We were interested in this work in the evaluation of the contents of phenolic compounds and the antioxidant properties of the aqueous extract of the plant *Thymus vulgaris* and *Rosmarinus officinalis. L*. Determination of the amounts of polyphenols and flavonoids showed that the aqueous extract of the *Thymus plant. Vulgaris* is very rich in polyphenols (118.75 ± 0.16 mgEAG/g) and flavonoids respectively (42.01 ± 0.004 mg RE/g). The in vitro study of the antioxidant activity by the DPPH method showed that aqueous extract of *Thymus vulgaris.L* and *Rosmarinus officinalis.L* respectively great ability to trap the DPPH radical with an IC_{50} value of order of 0.215 ± 0.035 μ g/ml and 0.015 ± 0.0035 μ g/ml. Hydroxyl (OH) radical scavenging is based on the ability of substances to scavenge the hydroxyl radical and is often assessed by the percentage inhibition of the OH radical reaction. The in vitro evaluation of the anti-inflammatory activity of the extracts of the two plants by the protein denaturation inhibition method showed that the two aqueous extracts have anti-inflammatory activity. The medicinal plants *Thymus vulgaris .L* and *Rosmarinus officinalis .L* are rich in secondary metabolites which have significant antioxidant and anti-inflammatory activities, the latter have a beneficial role for health thanks to the protection against aging, reduce the risk of cancer and cardiovascular disease.

Keywords: polyphenol, flavonoids, *Thymus vulgaris*, denaturation.

ملخص

اكليل الجبل و الزعرتر البري هما نباتات عطرية التي تميز المناطق القاحلة في منطقة البحر الأبيض المتوسط. تستخدم هذه النباتات على نطاق واسع بشكل تقليدي لهذه الفضائل العلاجية. اهتمنا بهذا العمل في تقييم محتويات المركبات الفينولية والخصائص المضادة للأكسدة للمستخلص المائي لنبات *Rosmarinus officinalis* و *vulgaris Thymus*. أظهر تحديد كميات البوليفينول والفلافونويد أن المستخلص المائي لنباتة الغدة الصعترية. *Vulgaris* غني جدًا بالبوليفينول (0.16 ± 118.75 مجم EAG / جم) والفلافونويد على التوالي (0.004 ± 42.01 مجم RE / جم). أظهرت الدراسة المخبرية للنشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة DPPH أن المستخلص المائي من *Rosmarinus officinalis.L* و *Thymus vulgaris.L* على التوالي قدرة كبيرة على اصطياد جذور DPPH بقيمة IC_{50} بترتيب 0.215 ± 0.035 ميكروغرام / مل و 0.015 ± 0.0035 ميكروغرام / مل. يعتمد الكسح الجذري للهيدروكسيل (OH) على قدرة المواد على تنظيف جذور الهيدروكسيل وغالبًا ما يتم تقييمه من خلال النسبة المئوية لتثبيط تفاعل جذري الهيدروكسيل أظهر التقييم المختبري للنشاط المضاد للالتهابات لمستخلصات النباتين عن طريق طريقة تثبيط تمسخ البروتين أن المستخلصين المائين لهما نشاط مضاد للالتهابات. تعتبر النباتات الطبية *Rosmarinus officinalis .L* و *Thymus vulgaris .L* غنية بالمستقلبات الثانوية التي لها أنشطة مهمة مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات ، وهذه الأخيرة لها دور مفيد للصحة بفضل الحماية من الشيخوخة ، وتقليل مخاطر الإصابة بالسرطان وأمراض القلب والأوعية الدموية.

الكلمات المفتاحية: البوليفينول ، الفلافونويد ، الغدة الصعترية الشائعة ، التمسح.

LISTE DES ABREVIATIONS

AAE : Equivalent en acide ascorbique.

AC : Absorbance du contrôle.

AMP : Adénosine monophosphate.

AND: Acide désoxyribonucléique.

ATP : Adénosinetriphosphate.

BHT : Butylhydroxytoluène.

COX : la cyclooxygénase.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EA : extrait aqueux

ERO: Espèces réactifs de l'oxygène (Reactive oxygen species).

GAE : Equivalent en acide gallique.

GSHP x : Glutathion peroxydase

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 %.

LISTE DES FIGURES

Table des matières

Résumés

Liste Des abréviations

Liste Des figures

Liste Des tableaux

Introduction Générale 1

Revue Bibliographique

1. phytothérapie	3
1.1. Différents thérapies à base de plantes médicinales.....	3
1.2. Avantages et inconvénients de la phytothérapie.....	4
1.2.1. Avantages.....	4
1.2.2. Inconvénients.....	4
2. Métabolite Secondaire	5
2.1. Polyphénols.....	5
2.1.1. Acides phénoliques	6
2.1.2. Flavonoïdes.....	6
2.1.3. Les anthocyanes.....	7
2.1.4. Les alcaloïdes.....	7
2.1.5. Tannins.....	8
2.2. Huiles essentielles.....	9
3. Activité antioxydant	9
3.1. Le stress oxydant.....	10
3.2. Les radicaux libres.....	14
3.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	10
3.2.2. Les radicaux dérivés d'azote (ERN).....	11

3.2.3. Rôle physiologique des espèces réactives.....	11
3.2.4. Sources des espèces réactives.....	12
3.3. les effets et les conséquences biochimiques du stress oxydant	16
3.4. Les antioxydants	15
3.4.1. Définition.....	15
3.4.2. Mécanisme d'action des antioxydants.....	15
3.4.3. Types des antioxydants	16
4. <i>Rosmarinus officinalis-L</i> et <i>Thymus vulgaris-L</i>	19
4.1. Description et classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis L</i> et <i>Thymus vulgaris L</i>	19
4.2. Composition biochimique du <i>Rosmarinus officinalis L</i> et de <i>Thymus vulgaris L</i>	22
4.3. Utilisation traditionnelle de <i>Rosmarinus officinalis L</i> et de <i>Thymus vulgaris L</i>	23
4.4. L'activité biologique de <i>Rosmarinus officinalis L</i> et de <i>Thymus vulgaris L</i>	24

Matériel Et Méthodes

1. Matériel	26
1.1. matériel de laboratoire	26
1.2. Matériel végétale	26
2. Méthode	27
2.1. Préparation d'extrait de la plante <i>Rosmarinus officinalis L</i> et de <i>Thymus vulgaris L</i>	27
2.2. Dosage des polyphénols totaux	27
2.3. Dosage des flavonoïdes	27
2.4. Dosage des tanins	28
2.5. Evaluation de l'activité antioxydants <i>in vitro</i>	29
2.5.1. Test de l'effet scavenger du radical DPPH	29
2.5.2. Test du piégeage du radical hydroxyle.....	29
2.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	30

Résultats et discussion

1. Rendements	32
2. Dosages des polyphénols et flavonoïdes	32

3. Dosage des tanins.....	33
4. Activités anti oxydantes <i>in vitro</i>	34
4.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test de DPPH.....	34
4.2. Piégeage du radical hydroxyle.....	35
5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	36
Conclusion et prescriptifs	39
Références bibliographiques	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableau01: les espèces réactives d'oxygène et de nitrogène d'intérêt biologique.....	11
Tableau02: Principales affections liées au stress oxydant.....	15
Tableau 03 : Classification botanique <i>Rosmarinus officinalis-L</i>	19
Tableau 04 : Classification botanique de <i>Thymus vulgaris L</i>	21
Tableau 05 : Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude.....	26
Tableau 06 : Rendement de l'extrait aqueux du <i>Rosmarinus officinalis L</i> et <i>Thymus vulgaris L</i>	32
Tableau 07 : Teneurs en polyphénols totaux (mgEAG/g), flavonoïdes (mg ER/g) des extraits aqueux des plantes <i>T.vulgaris L</i> et <i>R.officinalus L</i>	32
Tableau 08 : Teneur des extraits aqueux de <i>Rosmarinus officinalis L</i> et <i>Thymus Vulgaris L</i> en tannin.....	33
Tableau 09 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH, exprimés par la concentration inhibitrice IC ₅₀ en mg/MI.	34
Tableau 10 : Résultats du piégeage du radical hydroxyle exprimés en mg/MI.....	35
Tableau 11 : Inhibition de la dénaturation (%) de l'activité anti-inflammatoire in vitro par différentes concentrations des extraits aqueux par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf.....	36



Introduction

Générale

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. **(Abedini, 2013)**

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies. **(Bouzabata, 2015)**

Les plantes médicinales contiennent des composants qui réduisent la formation des radicaux libres et éliminent le stress oxydatif qui conduit à plusieurs maladies. **(Boudjouref, 2011)**

Dans les systèmes vivants, une production physiologique d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces réactifs est possible. Les défenses antioxydants, dont une partie est dépendante de l'alimentation, peuvent être insuffisantes pour empêcher les dégâts cellulaires que peuvent causer les radicaux libres de l'oxygène. **(Orban, 2010)**

Ce travail s'inscrit donc dans cette problématique générale qui consiste à quantifier les teneurs en poly phénols et flavonoïdes de la plante *T. vulgaris* et *R. officinalis*. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'effet des flavonoïdes sur le stress oxydatif.

Nous avons fixé comme objectifs les points suivants :

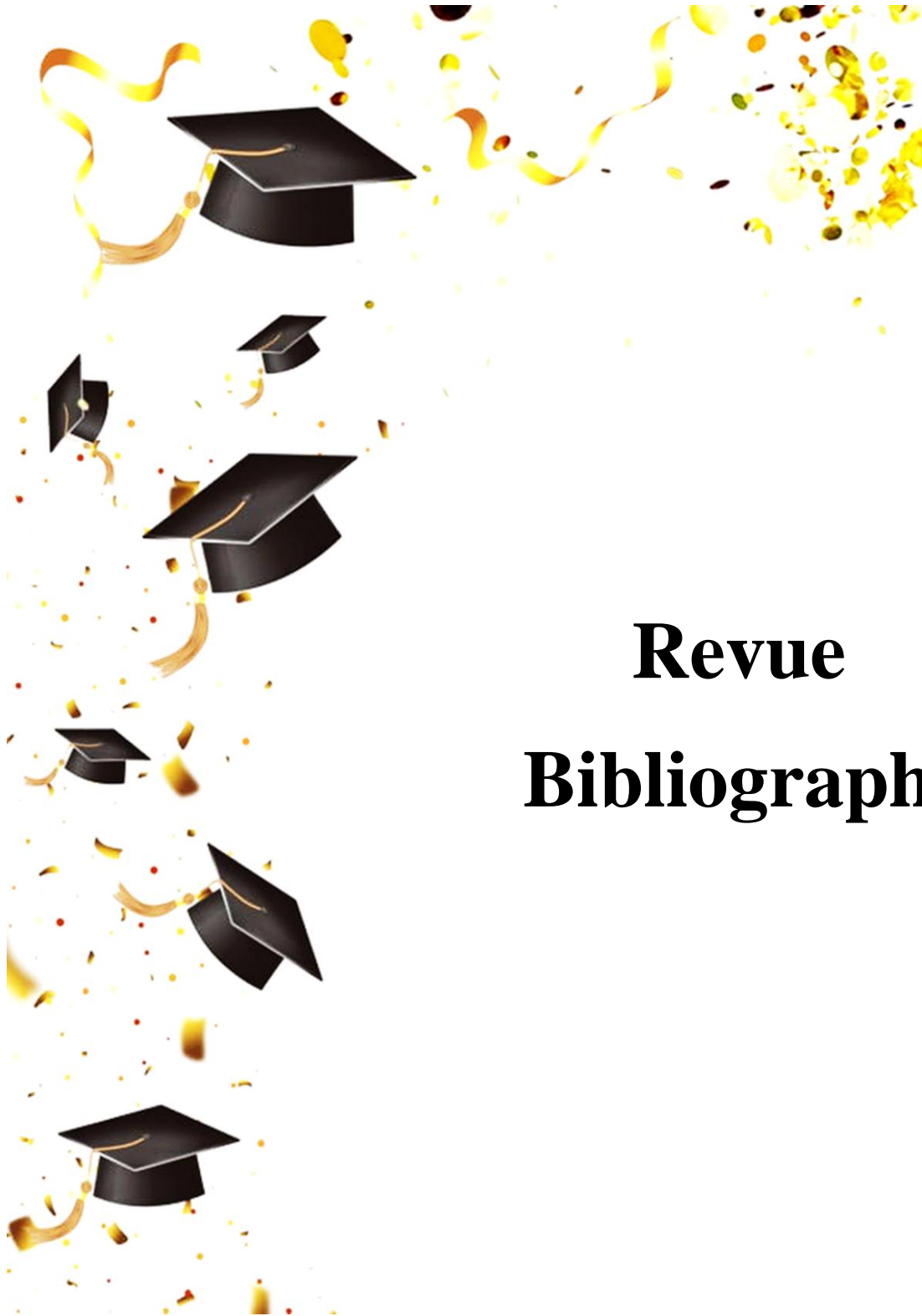
- ✓ Analyse photochimiques de l'extrait aqueux de *thymus vulgaris*
- ✓ Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de *thymusvulgaris*
- ✓ Evaluation *in vitro* de l'activité anti inflammatoire de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris.et Rosmarinus officinalus*

Le présent manuscrit est organisé en trois parties :

- La première partie est consacrée à la recherche bibliographique, sur les antioxydants.

- La deuxième partie décrit le mode opératoire et les différentes techniques utilisées.
- La troisième partie présente les résultats obtenus, avec la discussion.

Enfin, la dernière partie comporte une conclusion et la présentation de quelques perspectives qui peuvent être développées ultérieurement.



Revue Bibliographiqu

1. phytothérapie

La Phytothérapie avant tout se définit comme étant une discipline allopathique, Fondée sur l'utilisation thérapeutique de la plante médicinale, Qui est basée sur des connaissances issues de la tradition. Elle est destinée à prévenir ou à traiter certains troubles fonctionnels mineurs ou certains états pathologiques au moyen de plantes, De parties de plantes ou de préparations à base de plantes, Qu'elles soient consommées ou utilisées par voie externe (**Bellamine, 2017**).

Aujourd'hui les médicaments proviennent de la nature et bien souvent des plantes, Dans le domaine des maladies internes Dermatologie et cosmétologie, Et aussi en balnéothérapie. Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (**Strang, 2006**). On peut la distinguer en deux types de pratiques:

- ✓ Une pratique traditionnelle ou classique : parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes. Selon l'Organisation mondiale de la santé, Cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est le plus Souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique (**OMS, 2015**).
- ✓ Une pratique basée sur les avancées scientifiques : Qui recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. (**OMS, 2015**).

1.1. Différents thérapies à base de plantes médicinales

1.1.1. Aromathérapie : Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, Ou huiles Essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

1.1.2. Gemmothérapie : Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.

1.1.3. Herboristerie : Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; Elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : Décoction, Infusion, Macération.

1.1.4. Homéopathie : A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; Les quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

1.2. Avantages et inconvénients de la phytothérapie

1.2.1. Les avantages

La phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Elle repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques (**Iserin et al., 2001**).

Les huiles essentielles ont à toutes époques, occupées une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisent autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. Beaucoup de travaux ont été réalisés dans ce sens, du fait de l'importance incontestable d'huile essentielle dans divers secteurs économiques, comme par exemple l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement. La branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides (**Afnor, 2000**).

L'adjonction d'un traitement phytothérapeutique renforce alors l'efficacité du remède chimique, ou diminue ses effets secondaires. Souvent, il est également possible d'adapter les posologies de ce remède chimique une fois associé au traitement à base des plantes (**Chabrier, 2010**).

La phytothérapie offre des possibilités très complètes que bien souvent la chimiothérapie conventionnelle ne peut pas égaler, puisque l'on peut aussi bien rétablir les grands équilibres physiologiques (neuroendocriniens, immunitaires) qu'agir sur les fonctions et donc intervenir appareil par appareil (locomoteur, cardio-vasculaire, etc.). Il est également possible d'avoir une action thérapeutique spécifique sur chacun des organes du corps, de façon précise et ciblée pour chaque plante utilisée (**Chabrier, 2010**). De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

1.2.2. Les inconvénients

La phytothérapie est une thérapeutique souvent peu toxique mais qui exige un certain nombre de précautions :

-Une bonne connaissance des plantes car certaines peuvent être toxiques ou manifester des réactions allergiques à certains sujets.

-Une connaissance approfondie de la pharmacologie (devenir des principes actifs dans l'organisme).

-S'assure du diagnostic et être attentif aux doses, En particulier pour les jeunes enfants, Les femmes enceintes ou allaitant et les personnes âgées.

-Certaines plantes ne peuvent être utilisées en même temps que d'autres médicaments ou présentent une certaine toxicité si le dosage est augmenté ou si le temps de traitement est prolongé (**Roux, 2005**).

2. Métabolite Secondaire

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante.

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires. Ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques.

2.1. Polyphénols

Polyphénols, Dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (**He Xia et Chen, 2008**). On les trouve dans les plantes, Depuis les racines jusqu'aux fruits.

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques. L'élément fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique (aromatique), au quel est directement lié au moins un groupe hydroxyle libre ou engagé Dans une autre fonction : Éther, Ester ou hétéroside (**Laraoui., 2007**). La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux Catégories :

Les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (**D'archivio et al., 2007**).

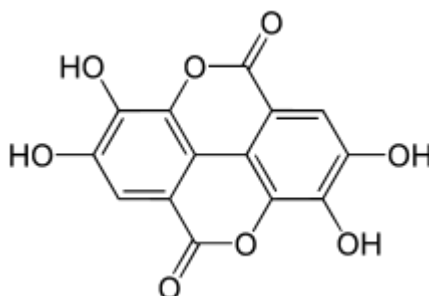


Figure 01 : Structure des polyphénols (**Sarni et Cheynier, 2006**)

2.1.1. Les acides phénoliques

Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Ignat et al., 2011**). Ce sont les composés non flavonoïdes (ne possèdent pas de squelette flavone) et ils sont une origine commune qui est l'acide aminé aromatique, la phénylalanine.

2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent chez les plantes un groupe très diversifié de métabolites secondaires qui se produisent naturellement sous leurs formes conjuguées (**Maceij , 2000**). Ils sont des composés phénoliques et interviennent probablement pour protéger les plantes des herbivores et contrôler le transport des auxines (**Judd et al., 2002**). Ils possèdent de nombreuses vertus thérapeutiques. Certains ont aussi des propriétés anti-inflammatoire, anti-oxydante anti-enzymatique et hépato protectrice. Ils jouent un rôle important dans le système de défense et anti virales (**Iserin, 2001**)

Les flavonoïdes constituent la plus vaste classe de composés phénoliques. A présent plus de 4000 composés ont été identifiés soit environ 50% des polyphénols. Ces composés ont une structure de base formé de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau

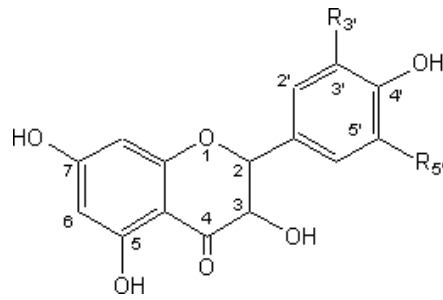


Figure 02 : Structure des flavonoïdes

2.1.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violet et bleu observées dans la nature (**Buchanan *et al.*, 2000**).

Les anthocyanes les plus connus sont la pélagonidine responsable de la couleur rouge ou orangé chez certaines plantes. Deuxième anthocyane connu c'est la cyanidine qui donne une coloration rouge ou rose et enfin la delphinidine responsable de la coloration mauve (**Heller et Formant, 1993**).

2.1.4. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée (appartenant vivant) d'origine végétale à caractère alcaline et présentant une structure complexe » (**Bruneton, 2009**). Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique ; les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative (**Hesse, 2002**) si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme (**Mc Calley, 2002 ; Silvestrini *et al.*, 2002 ; Stöckigt *et al.*, 2002**). Ainsi on divise les alcaloïdes en trois genres :

-**Les alcaloïdes vrais** : qui représentent le plus grande nombre d'alcaloïdes, sont toxique et disposant d'un large spectre d'acides aminés et comportement un atome d'azote dans un système hétérocyclique.

- **Le pseudo alcaloïdes** : présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés, les alcaloïdes stéroïdaux et les purines sont les représentant principaux de cette classe d'alcaloïdes.

- **Les proto alcaloïdes** : Sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, Ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acide aminés. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (**Bruneton, 2009**).

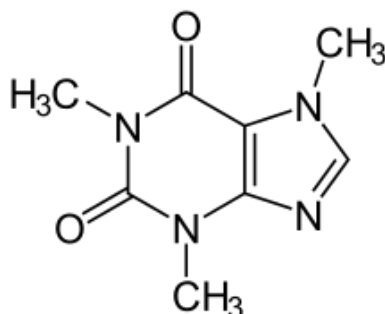


Figure 03 : Structure chimiques des alcaloïdes

2.1.5. Tannins

Les tannins (ou tanins) sont des composés polyphénoliques utilisés pour tanner les peaux. Les tannins ont plusieurs activités biologiques. Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antioxydants. Ces composés présentent une grande capacité de piégeage des radicaux libres et aussi dans l'inactivation des ions prooxydants (**Bruneton, 1999**).

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles (**Aguilera et al., 2008**). Ce sont des composés phénoliques ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da et qui présentent à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Fogliani, 2002**). Sur le plan structural, on distingue les tanins hydrolysables, esters d'acide phénolique, des tanins condensés plutôt des polymères de polyhydroxy flavan-3-ols (**Fogliani, 2002**)

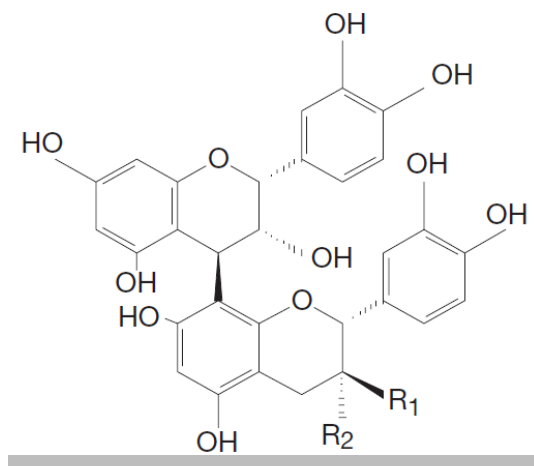


Figure 04: Structure chimique d'un tanin condensé (Sarni et Cheynier, 2006).

2.2. Huiles essentielles

Ces produits, appelés communément essence, sont les substances odorantes volatiles contenues dans les végétaux. Leur volatilité les oppose aux huiles fixes qui sont des lipides. Ces huiles essentielles (HEs) sont mélangées de constituants plus ou moins nombreux, généralement liquides (Paris et Moyse, 1976).

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (Amarti, 2009).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques a été largement décrite in vitro ainsi que les activités antispasmodique, diurétique ou expectorante (Hans, 2007), Anti-oxydante et anti-inflammatoire et elles présentent également un fort pouvoir antifongique (Juhás *et al.*, 2009).

L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (Mann *et al.*, 2000). En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Giordani et Kaloustian, 2006).

3. Activité antioxydants

3.1. Le stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette situation peut être due à une diminution des défenses antioxydants ou à une augmentation de production des radicaux libres (Orban, 2010).

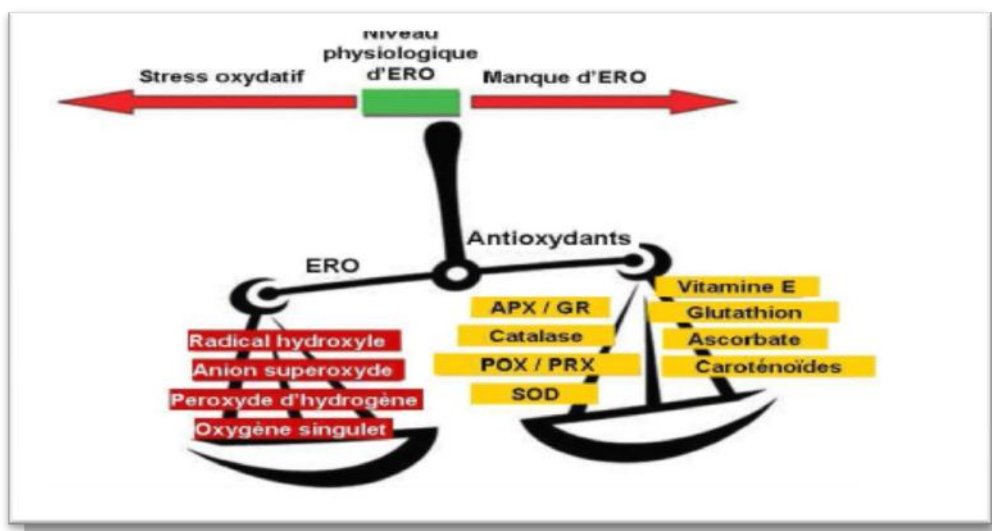


Figure 05 : Schématisation de la balance entre les ERO et les antioxydants (Pourrut, 2008).

3.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont connus dans la chimie depuis le début 20^{ème} siècle. Ils ont été initialement utilisés pour décrire des composés intermédiaires en chimie organique et inorganique (Rochette *et al.*, 2013). Ce sont des molécules ou fragment de molécules très réactives, puisque ils contiennent des électrons non appariés dans leur orbite extérieure (Penna *et al.*, 2009), ils cherchent donc à atteindre un état stable en s'appropriant les électrons des molécules proches qui à leur tour deviennent instables (Capasso, 2013).

3.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les radicaux dérivés de l'oxygène représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants (Grassi *et al.*, 2010). Ce sont des molécules très réactives qui sont constamment produites par des réactions enzymatiques dans les cellules (Pérez *et al.*, 2013). Il existe plusieurs ERO comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Ivanov *et al.*, 2013).

3.1.2. Les radicaux dérivés d'azote (ERN)

Contrairement aux ERO, il y a peu de données sur l'altération induite par les espèces réactives d'azote (Kocsy *et al.*, 2013), ils sont considérés comme une sous-classe des radicaux libres qui sont générés par la réaction de l'oxygène avec l'azote (Penna *et al.*, 2009).

Les ERN incluent des espèces non-radicalaires (acide nitreux, le peroxydinitrite et alkyl-peroxydinitrite), et des espèces radicalaires (l'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote).

Tableau 01 : les espèces réactives d'oxygène et de nitrogène d'intérêt

L'espèce réactive	Symbole	Demi-vie biologique (seconde)
Les espèces réactives de l'oxygène		
anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	10^{-6} s
radical hydroxyle	OH^{\cdot}	10^{-9} s
peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	stable
radical peroxyde	ROO^{\cdot}	seconde
hydroperoxyde	$ROOH$	stable
oxygène singulet	1O_2	10^{-6} s
ozone	O_3	seconde
Les espèces réactives d'azote		
oxyde nitrique	NO^{\cdot}	seconde
peroxydinitrite	$ONOO^-$	10^{-3} s
acide peroxydinitrique	$ONOOH$	stable
dioxyde de nitrogen	NO_2	seconde

biologique (Devasagayam *et al.*, 2004).

3.1.3. Rôle physiologique des espèces réactives

Les ERO et les ERN sont produits dans toutes les cellules et jouent des rôles importants dans la physiologie des cellules tels que le déclenchement des réponses antioxydants, la migration (**Bedolla et al., 2013**), la prolifération cellulaire normale, le métabolisme, l'expression de gènes, la mort cellulaire programmée, la sénescence (**Fransen et al., 2012**), la différenciation cellulaire, l'immunité et la défense contre les microorganismes (**Roberts., Sindhu, 2009**).

De même, l'oxyde nitrique est un signal important dans divers événements physiologique dans les plantes comme la germination, le développement des racines, la fermeture des stomates, la floraison, la formation des nodules, la sénescence des feuilles, la mort cellulaire et la défense des plantes contre le stress abiotiques et biotiques (**Kocsy et al., 2013**).

3.1.4. Sources des espèces réactives

a- Les sources endogènes

- La mitochondrie á partir de la chaîne respiratoire durant le transfert des électrons (**Marchi et al., 2013**). La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons) conduisant à la production d'eau. Toutefois, cette chaîne de transport peut laisser «fuir» une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement (**Gardès et al., 2003**). 1 à 3% des électrons fuient au niveau du complexe I et III de la chaîne respiratoire pour former l' O_2^- (**Valko et al., 2007**), ce dernier est considéré comme la source de nombreux radicaux (peroxyde d'hydrogène, oxygène singulier et radical hydroxyle...) (**Kuka et al., 2012**).

- La production massive des ERO dans la mitochondrie augmente au cours du vieillissement cellulaire, puisque la fonction de la mitochondrie est altérée et l'intégrité de la membrane endommagé (**Kohen et Nyska, 2002**).

- Les peroxysomes sont des organites intracellulaires délimités par une membrane unique et dépourvu d'ADN (**Deirio, 2011**). Les peroxysomes de mammifères jouent un rôle important dans plusieurs voies métaboliques, y compris, le métabolisme des acides gras (α -et β - oxydation), le métabolisme de glyoxylate, catabolisme des acides aminés, l'oxydation des polyamines et la voie des pentoses phosphates. La plupart des enzymes qui participent à ces voies génèrent des ERO ou ERN spécifiques comme sous-produits de leur fonction catalytique normale (**Fransen et al., 2012**).

- Les globules blancs, dont les neutrophiles, éosinophiles, les basophiles, les monocytes et les lymphocytes, sont des producteurs importants des ERO endogènes au cours de leur attaque contre les bactéries et les autres envahisseurs (**Cohen *et al.*, 2002**).

- Il y a quelques preuves que les tissus qui sont temporairement privés de leur approvisionnement du sang peuvent attirer un cas cascade de réactions menant à la production des radicaux libres (**Lamina *et al.*, 2013**).

- Les réactions de Fenton et de Haber-Weiss peuvent être considérées comme source de la génération d'OH[•] à partir de H₂O₂. La réaction de Fenton peut aussi être effectuée par des métaux autres que Fe²⁺ comme Cu²⁺, Mn²⁺, Cr³⁺, Ni²⁺ (**Höhn *et al.*, 2013**).



- Plusieurs systèmes enzymatiques produisent les ERO au cours des réactions biochimiques dans les cellules. On peut les diviser en trois groupes: celles actives constitutionnellement, celles dont l'expression est induite en conditions pathologiques et celles qui sont importées au niveau vasculaire par les cellules migratrices (monocytes, macrophages). On retrouve dans le premier groupe les cyclo-oxygénases-1, les lipoxygénases, le cytochrome P450, la xanthine oxydase et la NAD(P) H oxydase, la NO synthase endothéliale. Les enzymes du deuxième groupe sont la thromboxane synthase, la cyclo-oxygénases- 2 et la NO synthase inductible dont les activités sont augmentées en conditions physiopathologiques. Enfin, les enzymes macrophagiques telles que la NAD(P) H oxydase leucocytaire et la myéloperoxydase constituent le troisième groupe (**Baudeux *et al.*, 2006**).

b- Les sources exogènes des espèces réactives

Plusieurs facteurs environnementaux peuvent être impliqués dans la production des espèces réactives tels que tabac, alcool, pollution, toxines exogènes, ozone, métaux toxiques (**Bargagli *et al.*, 2009**).

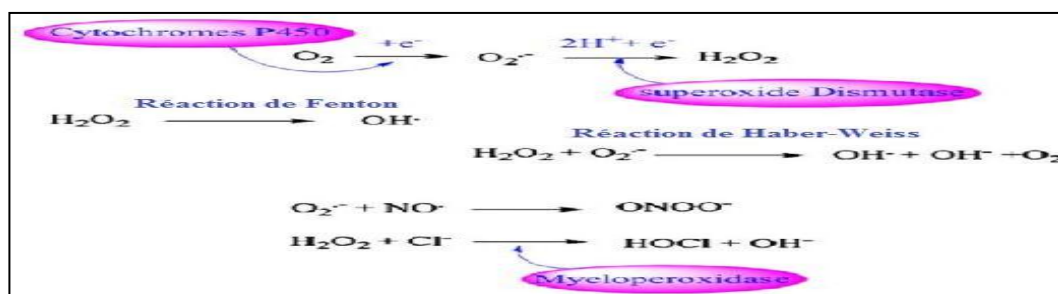


Figure 06: la Formation des différentes espèces réactives lors des activités métaboliques cellulaires (Jena, 2012).

3.2. Les effets et les conséquences biochimiques du stress oxydant

Il s'agit des modifications des macromolécules cellulaires comme les lipides, les membranes, les protéines et les acides nucléiques. Ces altérations peuvent modifier les fonctions des cellules et conduire à la mort cellulaire (Ma *et al.*, 2013).

➤ L'action sur l'ADN

L'ADN est constamment attaqué par des espèces réactives qui peuvent affecter sévèrement sa structure et sa fonction. Les modifications structurales de l'ADN résultent essentiellement à des modifications de ses bases, la coupure des brins d'ADN et l'altération de nombreuses protéines qui sont en contact avec l'ADN (Jena; 2012). Ces modifications peuvent conduire à des mutations génétiques affectant les oncogènes et les gènes suppresseurs des tumeurs (Borrego *et al.*, 2013).

➤ L'action sur les lipides

Le stress oxydatif cause la peroxydation lipidique dans les membranes cellulaires quand les radicaux libres réagissent avec les constituants membranaires essentiellement les acides gras polyinsaturés et les LDL. Les interactions entre les ERO et les lipides se déroulent en trois étapes: l'initiation, la propagation et la terminations (Ahmed *et al.*, 2013).

La peroxydation des lipides implique la destruction des lipides membranaires, des troubles métaboliques et inflammatoires, la formation et la propagation des radicaux lipidiques avec de nombreux effets délétères (Zhao *et al.*, 2013) comme le Malon di aldéhyde (MDA) qui est un produit caractéristique de ce processus (Rofi *et al.*, 2013).

➤ L'action sur les carbohydrates

Les radicaux libres tels que OH^{\cdot} réagissent avec les carbohydrates par une abstraction d'un atome d'hydrogène d'un des atomes de carbone, pour produire un radical centré de carbone. Cela conduit à

des ruptures dans la chaîne des molécules importantes comme l'acide hyaluronique dans le liquide synovial entourant les articulations (Devasagayam *et al.*, 2004).

Tableau 02: Principales affections liées au stress oxydant.

Pathologies	Références
Maladies neuro dégénératives : Alzheimer Parkinson épilepsie	(Hwang, 2013). (Pizza <i>et al.</i> , 2013). (Cardenas, 2013)
Maladies du foie: fibrose, cirrhose, carcinome hépatocellulaire	(Shin <i>et al.</i> , 2013).
Maladies cardiovasculaires: Athérosclérose, hypertension	(Marchi <i>et al.</i> , 2013).
Maladies respiratoires: bronchospasme aigu, emphysème, asthme	(Kusano et Ferrari, 2008).
Maladies auto-immunes : arthrite rhumatoïde	(Subedi <i>et al.</i> , 2012).
Maladies de l'œil: cataracte	(Chakraborty <i>et al.</i> , 2007).
Diabète	(Mima, 2013).
Cancer	(Kaushal et kudva, 2013).

3.3. Les antioxydants

3.3.1. Définition

Un antioxydant est défini comme toute substance qui lorsqu'elle est trouvée à des concentrations faibles par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou prévient significativement l'oxydation de ce substrat (Asgarpanah et Kazemivash, 2012)

3.3.2. Mécanisme d'action des antioxydant

Les antioxydants peuvent protéger l'organisme contre les effets néfastes des espèces réactives comme suit :

- ❖ Inhibition de la formation des radicaux libres.
- ❖ Neutralisation des radicaux libres.
- ❖ Augmentation du système de défense du corps.
- ❖ Réparation des dommages résultants de radicaux libres (Lamina *et al.*, 2013).

3.3.3. Types des antioxydants

Pour contrôler la production permanente des espèces réactives, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages de ces radicaux (**Rajesh et al., 2013**). Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes ou proviennent de l'alimentation ou la médication et sont donc exogènes.

3.3.3.1. Les antioxydants endogènes

➤ *Les antioxydants enzymatiques*

Ce système comprend plusieurs éléments dont les plus connus sont: la superoxyde *dismutase* (*SOD*), la catalase, la glutathions peroxydase (GPx). A côté de ces enzymes principales, il se trouve:

Les peroxyredoxines (Prxs)

Ce sont des enzymes dimériques avec une masse moléculaire d'environ 23 kDa. Ils sont caractérisés par la présence de résidus de cystéine à leur centre catalytique et agissent en tant qu'antioxydants spécifiques. Ces protéines sont également impliquées dans la dégradation enzymatique de H₂O₂, d'hydroperoxyde et d'ONOO⁻. $\text{Prx}(-\text{SH})_2 + 2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Prx-S}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. La thioredoxine peut régénérer la forme réduite du Prx (**Cardenas et al., 2013**).



Les paraxonases

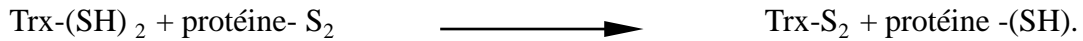
Récemment, la famille paraoxonase (PON) a émergé comme une nouvelle classe d'enzymes antioxydants, jouant un rôle important dans les maladies associées à l'obésité, notamment les maladies cardiovasculaires et le diabète. Elle se trouve en particulier, à la surface des lipoprotéines de haute densité(HDL), PON₁protège les lipoprotéines de basse densité (LDL) et des cellules circulantes contre les dommages oxydatifs, évitant ainsi les réactions inflammatoires dans les cellules de la paroi artérielle (**Savini et al., 2013**).

L'hème oxygénase-1(HO-1)

L'HO-1 joue un rôle important dans le métabolisme de l'hème, elle est considérée comme une enzyme antioxydante capable de réduire le stress oxydatif et inhiber l'inflammation. Des résultats récents indiquent queHO-1joue un rôle bénéfique dans les maladies cardiovasculaires et dans la régulation du poids corporel et le métabolisme dans le diabète et l'obésité (**Savini et al., 2013**).

Thioredoxin(Trx)

Cette enzyme avec un poids moléculaire de 12 kDa, est principalement trouvée dans le réticulum endoplasmique, sous la forme réduite. Elle contient deux groupes thiol (SH) qui peuvent être oxydés pour former le bisulfure (S₂ ou S-S):



Trx peut également réagir directement avec H₂O₂ (Cardenas *et al.*, 2013).



➤ Les antioxydants endogènes non enzymatiques

Ce système comprend plusieurs molécules telles que le glutathion, l'acide urique et les protéines de stockage des métaux de transition (ferritine, transferrine, lactoferrine, céruloplasmine) (Savini *et al.*, 2013).

3.3.3.2. Les antioxydants exogènes

a. La vitamine E

C'est un terme qui désigne un ensemble de composés phénoliques appelés tocophérols (α , β , γ , δ) ou tocols. Ils diffèrent les uns des autres par la position des groupes méthyles sur le cycle aromatique. C'est l' α tocophérol qui est biologiquement le plus efficace. Plus de 50% de la vitamine E se trouvent dans les tissus adipeux, le caractère hydrophobe de cette vitamine lui permet de s'insérer au sein des membranes biologiques riches en acides gras polyinsaturés, où elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les espèces réactives (Yang et Mc Clements, 2013).

b. La vitamine C

Elle est essentielle pour l'homme, car elle a plusieurs fonctions critiques comme un cofacteur enzymatique et un antioxydant (Kim *et al.*, 2013); en tant que cofacteur enzymatique, la vitamine C est impliquée dans la synthèse des catécholamines, du collagène, la synthèse de carnitine, la transformation de la dopamine en noradrénaline, le métabolisme des stéroïdes, de la tyrosine, du cholestérol et la formation de l'acide biliaire. Comme antioxydant, la vitamine C protège l'ADN, les protéines, les lipides, les enzymes et d'autres antioxydants par le piégeage des radicaux libres et la réduction des ions métalliques (Ge *et al.*, 2008).

c. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH[•] et peroxydes RO[•]. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique. Les caroténoïdes peuvent aussi capter l'oxygène singulet, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages

induits par les rayons ultraviolets (**Gardès et al., 2003**). Le β -carotène (provitamin A), le composant le plus efficace dans la famille des caroténoïdes; est une substance liposoluble susceptible d'être transformé en vitamine A dans le corps (**Sanders et Emery, 2003**).

e. Les polyphénols

Les polyphénols sont connus par leur activité antioxydant (**Zhu et al., 2012**) qui est due à la présence d'un nombre important de groupements hydroxyles phénoliques. Les propriétés redox de ces composés leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et éliminateurs de l'oxygène singulet.

Certains montrent des propriétés chélatrices de métaux (**Proestos et al., 2013**) et d'autres peuvent empêcher la production enzymatique des ERO telles que l'inhibition de cyclooxygénase, lipoxygénase et cytochrome P450 (**Ferguson, 2001**) de même augmenter l'expression des enzymes qui ont une activité antioxydante telles que la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la catalase (**Jayasena et al., 2013**).

f. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont utilisés dans l'industrie alimentaire afin d'éviter l'oxydation des lipides (**Olmedo et al., 2013**) et de conserver les aliments pour le stockage et le transport prolongés (**Olszewska et al., 2010**). Ces antioxydants les plus utilisés sont le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) (**Hossain et al., 2008**). Ces antioxydants sont connus par leur effet néfaste à savoir le BHT et le BHA qui ont été soupçonnés d'être responsables de lésions du foie et de la carcinogénèse (**Senevirathne et al., 2006**).

4. *Rosmarinus officinalis* -L et *Thymus vulgaris*- L

4.1. Description et classification botanique de *Rosmarinus officinalis*. L et *Thymus vulgaris*.L

4.1.1. *Rosmarinus officinalis* .L

Le romarin, est un arbrisseau de la famille des Lamiacées originaire des pourtours de la Méditerranée. Il possède de nombreuses vertus phyto thérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire et une plante mellifère, ainsi qu'un produit fréquemment utilisé en parfumerie. Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur. Il possède des feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, légèrement enroulés aux bords, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous, avec une odeur très camphrée. Les fleurs varient du bleu pâle au violet (**Williams, 1996**).

Arbrisseau aromatique touffu, rameux, d'environ 1m de hauteur, à tiges ligneuses (**Bellakhdar,2006**).

Les feuilles pouvant atteindre 3cm de long et 4mm de large, sont étroitement lancéolées, acaules, et friables; le bord est involuté vers le bas (rangée supérieure).Les jeunes feuilles sont pubescentes sur la face supérieure, alors que les plus âgées sont glabres. Elles sont ridées et striées en raison d'une nervure médiane enfoncée, en revanche très proéminente sur la face inférieure, recouverte d'une pubescence blanche dense (**Pharmacopée française, 1998**).

Les fleurs apparaissant dès janvier, bleu pâle ou lilas, sont groupées en grappes axillaires et terminales dans la partie supérieure des rameaux (**Pharmacopée française,1998**)

Ces inflorescences spiciformes portent en tous essais on des fleurs subsessiles. Le calicegamo sépale, bilabié en forme de cloche, possède 3 lobes. La corolle gamopétale est longuement tubuleuse avec une lèvre supérieur en forme de cas que à 2lobes et une lèvre inférieure à 3 lobes. Les 2 étamines saillantes dépassent largement la corolle; 2 autre sont réduites à des crochets. Le fruit est un akène brun (**Pharmacopée française, 1998**).



Figure 07: photographie *Rosmarinus officinalis-L* (**Quézel et Santa, 1963**).

Tableau03:Classification botanique *Rosmarinus officinalis-L* (Quézel et Santa, 1963).

	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales(Labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis .L</i>

4.1.2. *Thymus vulgaris-L*

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris* L. localement connu "zaatar". En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre ("thym" et "thyme" respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (Amiot, 2005).

Le nom "*Thymus*" dérive du mot grec « thymos » qui signifie "parfumer" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001).

Thymus vulgaris est un sous arbrisseau, vivace, touffu et très aromatique de 7-30 cm de hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert grisâtre. Ses tiges ligneuses à la base, herbacées supérieurement sont presque cylindriques, ces tiges ligneuses et très rameuses sont regroupées en touffe ou en buisson très dense. Ses feuilles sont très petites, ovales, à bord roulés en dessous à nervures latérales distinctes, au pétiole extrêmement court et blanchâtres à leur face inférieure. Ses fleurs sont presque roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures. Le limbe du calice est bilabié, un peu bossu.

La corolle de taille variable, un peu plus longue que le calice mais la partie tubulaire de la corolle ne dépasse pas celle du calice, les étamines sont incluses. La période de la floraison commence en mai-début de juin (Zeghad, 2008).



Figure 08 : Photographie de *thymus vulgaris*. (Yakhlef, 2009)

Tableau 04 : Classification botanique de *Thymus vulgaris L* (Yakhlef, 2009).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris L</i>

4.2. Composition biochimique du *Rosmarinus officinalis .L* et de *Thymus vulgaris- L*

4.2.1. *Rosmarinus officinalis .L*

L'huile essentielle du romarin (1 à 2% dans la plante) contient : de l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En plus de l'huile essentielle on trouve dans le romarin: (2à4%) de dérivés triterpéniques tels que: l'acide uronique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques picrosalvine, dérivées de l'acide canosolique, romanol,

romadial, des acides phénolique, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques l'acide citrique, glycolique, et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage (Bellakhdar, 1997) et de la résine (Beloued, 1998).

Les résultats de l'analyse d'HPLC ont montré respectivement la composition suivante : lutéoglucoside 2.90 mg/g ; naringine-glucoside : 7.16 mg/g ; lutéoline : 2.45 mg/g ; apigénine : 1.80mg/g. L'acide vanillique 0.004mg/g; l'acide caféique 0.012mg/g; arginine 0.570mg/g; l'acide rosmarinique 2.080mg/g; hispiduline 0.020mg/g; cirsimaritrine 0.080mg/g; carnosol 0.580mg/g ; acide carnosique 12.180 mg/g (Koşar *et al.*, 2000).

4.2.2. *Thymus vulgaris*.L

De nombreuses études ont révélé que la plante *Thymus vulgaris* est très riche en plusieurs constituants (Amiot, 2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton, 1999) ; l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4 - 58,1 %), p-cymène (9,1 - 18,5 %), La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol (Hudaib *et al.*, 2002 ; Bouhdid *et al.*, 2006).

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine, et anthocyanine dans l'infusion aqueuse préparée du *thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes spectrophotométriques (Kulišić *et al.*, 2006).

De nombreuses études ont confirmé que les espèces qui appartiennent à la famille des Lamiaceae sont une bonne source d'acide rosmarinique (Kulišič *et al.*, 2006).

4.3. Utilisation traditionnelle de *Rosmarinus officinalis* .L et de *Thymus vulgaris*.L

4.3.1. *Rosmarinus officinalis* .L

Rosmarinus officinalis-L est utilisé par voie topique au Mexique pour soulager la douleur rhumatismale et pour améliorer la circulation du sang et soigner la peau (Hamedo, 2009).

Le thé du romarin peut être utilisé pour les maux de tête et les rhumes guéris, ainsi il est utilisé comme diurétique efficace et stabilisateur de l'humeur (Haloui et Lyoussi, 2000). *Rosemary* était censée renforcer la mémoire dans la Grèce antique (Foley, 1974)

Il est couramment utilisé comme additif parfumé dans les savons et autres produits cosmétiques pour traiter la cellulite, les rides et normaliser la sécrétion excessive d'huile de la peau (**Hamedo, 2009**). Les extraits produits à partir des feuilles de romarin peuvent également être utilisés dans la production alimentaire pour empêcher les matériaux de se détériorer en raison de leurs propriétés antioxydants. Son efficacité dans la conservation des aliments peut être observée dans de nombreux types d'aliments

4.3.2. *Thymus vulgaris .L*

Le Thymus est l'une des plantes les plus utilisées comme épices et extraits à fort pouvoir antibactérien et anti-inflammatoire dans la pharmacopée traditionnelle. En médecine traditionnelle, cette espèce est très utilisée sous plusieurs formes : Les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, et le rhume, en tisane tonique, en décoction pour guérir les maux de tête, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques. Les feuilles de *Thym* sont riches en huile essentielle dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie. Son huile est parmi les dix premières huiles essentielles du monde. Elle est antiseptique et utilisée à ce titre pour soigner les infections pulmonaires comme l'asthme et la bronchite. Son action antiseptique s'exerce également sur le système digestif et notamment en cas de diarrhée (**Ghelichnia, 2016**).

4.4. L'activité biologique de *Rosmarinus officinalis .L* et *Thymus vulgaris.L*

4.4.1. *Rosmarinus officinalis .L*

L'extrait d'huile essentielle de romarin faisait partie du groupe d'huiles essentielles ayant des effets antifongiques (**Yang et Clausen, 2007**).

La présence de pourcentage élevé de composés phénoliques dans l'extrait d'huile essentielle de romarin a contribué à ses effets antioxydants (**Fahim et Hassan, 1999**).

Des extractions de romarins ont été utilisées pour traiter le syndrome de sevrage de la morphine (**Hosseinzadeh et Nourbakhsh, 2003**).

Rosemary a été trouvée pour produire une amélioration dans les facteurs de mémoire secondaires et les termes de la qualité globale de cette dernière. Cependant, il a été trouvé pour altérer la composante de vitesse de la mémoire (**Moss et Duckett, 2003**).

Rosemary utilisé comme traitement contre plusieurs troubles neurologiques tels que l'alzheimer et d'autres démences (**Orhan et Başer, 2008**).

4.4.2. *Thymus vulgaris .L*

4.4.2.1. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles obtenues à partir de *Thymus vulgaris* L. récoltées à 4 étapes du processus biologique ont été évaluées pour leur activité biologique et leurs composants chimiques. Les huiles volatiles de *thymus* ont été analysées pour leurs effets inhibiteurs contre 9 souches de bactéries Gram-négatives et 6 souches de bactéries Gram-positives.

La méthodologie de bio impédance a été choisie pour découvrir l'activité antibactérienne des huiles essentielles et également le paramètre choisi pour décrire et quantifier l'activité antibactérienne des huiles de *thymus* était le temps de détection. La technique de comptage sur plaque a été utilisée pour étudier l'effet inhibiteur par exposition directe. Les huiles essentielles de thym examinées avaient une activité bactériostatique significative contre les microorganismes testés. Cette activité était en outre marquée contre les bactéries à Gram positif. L'huile de *thymus* entièrement fleurie était la plus efficace pour arrêter la croissance des espèces de micro-organismes examinées. Les huiles testées se sont révélées conjointement posséder une activité antibactérienne intéressante par contact direct, ce qui donnait l'impression d'être très marquées contre le gram négatif micro-organisme.

Certaines espèces étaient capables de récupérant au moins 50% de leur fonction métabolique une fois en contact avec l'inhibiteur, alors que la plupart des souches se sont révélées presque totalement inactivées (**Prasanth, 2014**).

4.4.2.2. Activité anti-inflammatoire

L'huile de *thymus vulgaris* est une combinaison de monoterpènes. La plupart des composés de cette huile sont le thymol terpénoïde naturel et ses composés chimiques de phénol carvacrol, qui ont des antioxydants, antimicrobien, médicamenteux, antitussif, antispasmodique et effets antibactériens. Terpénoïdes, flavonoïdes aglycones, flavonoïdes des glycosides et des acides résiniques synthétiques ont également été trouvés dans le *thymus vulgaris* (**Prasanth, 2014**).

4.4.2.3. Effet antioxydant

Des recherches menées dans les années 1990 en Écosse ont établi les vertus potentielles de la plante et de son huile essentielle, en prévention du vieillissement. Des études récentes indiquent que *Thymus vulgaris* est un puissant antioxydant et assure des doses élevées d'acides gras essentiels dans le cerveau (**Iserin, 2001**).

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été testée pour son activité antioxydante par deux méthodes différentes : la technique de décoloration de la b carotène et le test du DPPH (Diphénylpicrylhydrazyl). Les résultats obtenus montrent que l'huile de *Thymus vulgaris* témoigne d'une grande activité antioxydante in vitro (**Bouhdid et al., 2006**).

L'extrait aqueux des feuilles de *Thymus vulgaris* a présenté une activité antioxydante importante, et les caractéristiques antioxydantes observées n'étaient pas entièrement liées à la teneur en phénols de l'huile essentielle dans n'importe quelle méthode analytique, mais vraisemblablement fortement dépendantes de l'acide rosmarinique, composé phénolique principal dans l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* (Thuille *et al.*, 2003).



Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel de laboratoire

Plusieurs réactifs chimiques et appareillages (Tableau 05) ont été utilisés dans la présente étude (extraction, dosage et activités biologiques).

Tableau 05 : Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude.

Appareillages	Réactifs chimiques
✓ Balance de précision (OHALUS)	➤ 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH [*]).
✓ Etuve (Mettler)	➤ Chlorure d'aluminium (AlCl ₃).
✓ Micropipettes (ISOLAB)	➤ Chlorure ferrique (FeCl ₃)
✓ Plaque chauffante (J.P.SELECTA).	➤ Folin-Ciocalteu.
✓ Spectrophotomètre (SECOMAN).	➤ Solvants (méthanol).
✓ Vortex (Techno Kartell TK 3S)	➤ Salicylate de sodium
✓ Tube à essay	➤ Fe ₂ O ₄
	➤ l'acide ascorbique
	➤ l'acide gallique
	➤ la quercétine
	➤ peroxyde d'hydrogène

1.2. Matériel végétale

Les plantes de *thymus vulgaris L* et *Rosmarinus officinalis L* ont été récoltées au mois d'avril, dans la région de bouhamma, Khenchela. L'identification botanique à été faite par Pr. LaouerH. (Université Ferhat Abbas Sétif-1, Algérie).

2. Méthode

2.1. Préparation d'extrait de la plante *Thymus vulgaris L* et *Rosmarinus officinalis L*

L'extrait aqueux des plantes *Thymus vulgaris L* et *Rosmarinus officinalis L* ont été préparés selon (Benzidane *et al.*, 2013). On prend les parties aérienne des deux plantes usagées, nettoyées, broyées et tamisées, et après on ajoutées l'eau distillée bouillante, placées sur un agitateur électrique pendant 30 minutes, puis filtrées (trois filtrations), Les extraits ont placés dans des assiettes en verre puis placés dans une étuve à une température de 37C°. Après 4jours les extraits prennent une couleur marron foncé et une forme cristallisable, puis on récupère les extraits qui se présentent sous forme de poudre et on les garde dans un récipient en verre.

2.2. Dosage des poly phénols totaux

A 100 µL d'extrait, on ajoute 500µL de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 minutes; 50 µL de solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃:3,75g) sont ajoutées. Les tubes sont immédiatement agités, puis incubés à une température ambiante pendant une heure et demie. La densité optique du complexe formé est lue à 765 nm contre un blanc. L'étalon choisi est l'acide gallique (AG). Les teneurs des polyphénols totaux sont exprimées en microgramme équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (Li *et al.*, 2007).

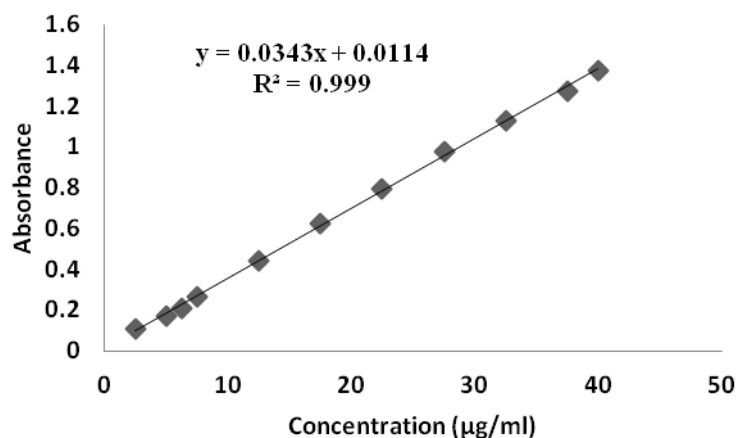


Figure 09 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne ± SD de trois essais).

2.3. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium selon le protocole décrit par (Kosalec *et al.*, 2004) avec quelques modifications. La quantification des flavonoïdes est réalisée en ajoutant à 500µL d'extraits aqueux, 500µL d'AlCl₃ à 2% dans le méthanol. Après une agitation vigoureuse, l'ensemble est incubé à l'ombre à la température ambiante pendant 10

minutes. L'absorbance de la solution est déterminée à 430 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage est établie avec la quercétine en qualité de flavonoïde standard.

Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait.

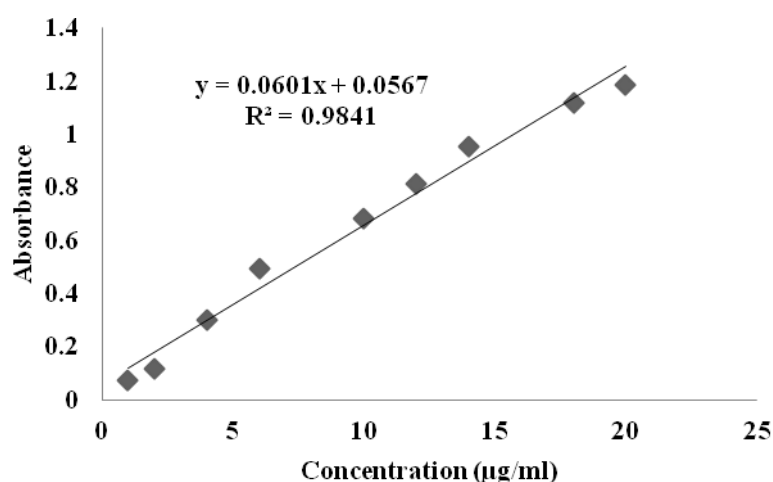


Figure 10 : Droite d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois essais).

2.4. Dosage des tannins

La détermination de la teneur en tannins des extraits aqueux des deux plantes *Thymus vulgaris L* et *Rosmarinus officinalis L* est faite par le test de précipitation de l'hémoglobine en utilisant le sang frais des bovins suivant la méthode décrite par **Gharzouli et ses collaborateurs (1999)**. Brièvement, un volume de sang hémolysé est mélangé avec un volume d'échantillon (extraits ou acide tannique) à différentes concentrations. Le mélange est laissé réagir pendant 20 min à température ambiante, puis soumis à une centrifugation 4000 rpm pendant 10 min à 4°C. La lecture du surnageant est faite à 576 nm contre l'eau distillée. Une gamme d'étalonnage est établie avec l'acide tannique (100-550 µg/ ml) (figure XY). La teneur en tannins des extraits est exprimée en microgramme d'équivalents d'acide tannique par milligramme d'extrait. Le taux de précipitation de l'hémoglobine des deux extraits est calculé selon la formule suivante : Taux de précipitation (%) = $[(Ac-At)/Ac] \times 100$

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.

2.5. Évaluation de l'activité antioxydants *in vitro*

Les extraits sont testés pour évaluer leur capacité antioxydant, deux différents tests d'évaluation sont utilisés, à savoir le test du DPPH qui permet de déterminer l'effet scavenger, et le test de radicale hydroxyle.

2.5.1. Test de l'effet scavenger du radical DPPH

L'activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux est déterminée en utilisant le DPPH comme un radical libre relativement stable selon le protocole décrit par **Boumerfeg et ses collaborateurs (2009)**. Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphénylpicryl-hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. En effet, la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4.8 mg de DPPH dans 120 mL de méthanol. 50 µL des solutions d'extraits ou standards (quercétine, BHT) sont ajoutés à 1250 µL DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm. L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = [(Abs_{517} \text{ contrôle} - Abs_{517} \text{ échantillon}) / Abs_{517} \text{ contrôle}] \times 100$$

A_C : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif)

A_E : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon) en µg / mL et comparée avec celle du BHT.

2.5.2. Test de radical hydroxyle

L'activité de piégeage du radical hydroxyle a été testée par la méthode de (**Geng et al., 2012**). En bref, le mélange réactionnel contient 500µL de FeSO₄ (1,5 mM), 350µL de peroxyde d'hydrogène (6 mM), 150µL de salicylate de sodium (20 mM) et un volume de 100 µL d'extraits à différentes concentrations (0.2- 60 mg/mL). Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 min à 37°C. L'absorbance a été ensuite mesurée à 560 nm. La vitamine C a été utilisée comme antioxydant standard. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = (1 - A_1 / A_0) \times 100$$

A_0 : l'absorbance de l'échantillon, A_1 : l'absorbance du contrôle.

2.6. Évaluation de l'activité anti inflammatoire *in vitro*

Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation par l'albumine de l'œuf. Une solution de 5mL, composée de 0,2mL d'albumine d'œuf, 2,8mL de solution saline de tampon phosphate (PBS, pH 6,4) et 2mL de l'extrait aqueux aux concentrations différentes. L'aspirine a été utilisé comme médicament de référence aux concentrations de 50, 100, 150 µg/mL. Un volume double d'eau distillée a servi de contrôle. Les mélanges sont incubés à $37 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 15 min puis chauffé à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 660nm. Le % d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé, en utilisant la formule :

$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times [Vt/Vc - 1]$ Vt = absorbance de l'échantillon d'essai ; Vc = absorbance de contrôle.

Le résultat obtenu est la moyenne de trois répétitions (**Fetni et Bertella, 2020**).



Résultats et

Discussion

1. Rendement

Pour l'obtention des extraits à partir de poudre de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L* et de *Thymus vulgaris L*, nous avons réalisé une extraction aqueuse (par décoction)

Tableau 06 : Rendement de l'extrait aqueux du *Rosmarinus officinalis L* et *Thymus vulgarisL*.

Plante	Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
<i>Thymus vulgaris L</i>	Aqueux	Poudre	Marron foncé	15.91
<i>Rosmarinus officinalis L</i>	Aqueux	Poudre	Brun claire	12.94

Les rendements des extraits aqueux de *R.officinalis* et de *T. Vulgaris* sont respectivement de l'ordre de 12.94 et 15.91 (**tableau06**). Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *thymus* représente le rendement le plus élevé. Nos résultats sont inférieurs à ceux reportés par (**Yakhlef, 2009 ; El azrak, 2017**) qui ont obtenus un rendement d'extraction de 20.05 et de 34,36 % pour le thym et le romarin respectivement. Cependant, nos résultats sont supérieurs à ceux reportés par (**Fadili et al., 2015**) et (**Kahouli, 2010**) qui ont obtenus un rendement d'extraction de 13,90% pour le *thym* et le *romarin*, respectivement. Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment l'espèce, la région de récolte, la période de récolte, les facteurs climatiques et la technique d'extraction (**Hafsé et al., 2013**).

2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

La détermination de dosage de polyphénols et flavonoïdes des extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis* et de *Thymus vulgaris L* est faite par l'utilisation de réactif de *Folin Ciocalteu* et de *trichlorure d'aluminium* respectivement. Les résultats obtenus sont présentés dans le (**tableau06**)

Tableau 07 : Teneur des extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis L* et *Thymus Vulgaris L* en polyphénols et en flavonoïdes

la Plante	Extrait aqueux	
	Polyphénols	Flavonoïdes
EATV	218.12 ± 0.025	7.34 ± 0,079
EARO	210.875± 0,023	7.26 ± 0,085

Les résultats montrent que les deux extraits aqueux des plantes *T.vulgaris L* et *R.officinalus L* contiennent une teneur plus élevés en polyphénols et flavonoïdes. Concernant la teneur en polyphénols du *thym*, **Yakhlef (2009)** a reporté une valeur inférieur de nos résultat avec une teneur en polyphénols de 67.63 mg GAE /g d'extrait aqueux. Pour la teneur de *Thymus vulgaris L*. en flavonoïdes (**Chouiha et Houacnia, 2018**), a trouvé une valeur supérieur au nôtre et qui est de 8.56 mg GAE /g d'extrait. Cette différence résulte vrai semblablement du fait que le dosage par le réactif Folin- Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés organiques non phénoliques peuvent réagir avec ce réactif comme dioxyde de soufre, acide ascorbique, les sucres, les amines aromatique, les acides organiques (**Medina et al., 2009**), aussi les différences de quantités de composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes)contenues dans les extraits des plantes étudiées elles-mêmes, ainsi que celles retrouvées par d'autres auteurs sont due:les conditions de préparation, l'extraction de ces composés (solvant, diluant, épuisement, température, la pression). (**Park et Cha, 2003**). Il est nécessaire de signaler l'interférence du composé recherché avec d'autres produits utilisés lors du dosage, ce qui influe sur les résultats finaux, à titre d'exemple la faible spécificité du réactif de Folin- Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles

Non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines (**Gomez et al., 2006**).L'eau et les solvants sont capable d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (**Talbi et al., 2015**).

3. Dosage des tanins

La teneur en tanins des extraits aqueux des *TV et RO* est déterminée en utilisant la méthode de précipitation de l'hémoglobine. Les résultats montrent que les extraits aqueux sont très riches en tanins.

Tableau 08 : Teneur des extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis L et Thymus Vulgaris L* en tanins

Extrait aqueux	Valeur
TV	72.14±0.09
RO	72.85 ±0.11

Les capacités des extraits TV et RO et de l'acide tannique à faire précipiter l'hémoglobine sont calculées en termes de pourcentage. Les résultats montrent que l'acide tannique induit une précipitation totale de l'hémoglobine à une concentration de 550 µg/mL. L'extrait aqueux a des effets tannants de 6%, 8% et 11% à des concentrations de 1 mg/ml, 1.5 mg/ml et 2 mg/ml respectivement. La raison principale pour laquelle on a choisi le dosage secondaires, réside dans le fait que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins constituent les classes responsables de l'activité antioxydante des plantes (**Osman et al., 2013**). De ce fait les extraits les plus riches en composées phénoliques peuvent être également considéré comme les plus antioxydants.

4. Activités anti oxydantes *in vitro*

4.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test de DPPH :

Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des activités antioxydants. Le DPPH est un radical libre qui accepte un électron ou un atome d'hydrogène pour devenir une molécule stable non radicalaire. La capacité de réduire ce radical est déterminée par la diminution de l'absorbance à 517 nm induite par la substance étudiée. Les profils d'activité anti radicalaire obtenus révèlent que les extraits du *Thym* et de *Romarin* possèdent une activité anti radicalaire dose dépendante. Les IC50 de chacun des différents extraits ont été déterminées (**Tableau09**)

Tableau 09 : Résultats du piégeage du radical libre DPPH, exprimés par la concentration inhibitrice IC₅₀ en mg/mL

Extrait	Test	IC ₅₀
EARO	DPPH	0.215±0.035
EATV	DPPH	0.015 ± 0.0035

Les extraits de TV et RO ont présenté une importante activité anti-radicalaire envers le DPPH. L'EA de RO présente l'extrait le plus actif avec une IC₅₀ de l'ordre 0.215±0.035 mg/mL. En tant l'EA de TV présente une activité anti radicalaire faible que celle du RO.

Les résultats obtenus dans le présent travail indiquent qu'il existe une relation linéaire entre le pouvoir anti radicalaire et la teneur en polyphénol . Des études antérieures ont montré des résultats semblables pour les extraits du *Globularia alypum*. Il a été montré qu'il existe une grande corrélation entre la concentration en polyphénols et l'activité antioxydante du (Khelifi *et al.*, 2011).

Du fait que *Thymus vulgaris L* et *Rosmarinus officinalis L* sont très riche en composés phénoliques et que ces derniers sont dotés d'une grande activité antioxydante, l'effet des extraits obtenus avec ce test serait probablement dû à ces molécules. Il est par ailleurs connu que les polyphénols auraient des propriétés scavenger envers différents types de radicaux, ce qui leur confère une grande capacité antioxydante. Plusieurs études ont rapporté que l'activité anti radicalaire des extraits des plantes dépend de la quantité de composés polyphénoliques dans ces derniers (Surveswaran *et al.*, 2007). Il a été rapporté que les composés phénoliques extraits à partir du *Globularia alypum* ont, pour la plupart produit une activité inhibitrice très puissante supérieure même à celle du BHT. L'étude de la relation structure/activité a montré aussi que l'action antioxydante augmente avec la présence des groupements 6-hydroxyl et caffeoyl (Essafi *et al.*, 2006).

4.2. Piégeage du radical hydroxyle

L'activité de piégeage du radical hydroxyle a été testée par la méthode de (Geng *et al.*, 2012). Les résultats obtenus montrent que les deux extraits aqueux ont une activité anti-radicalaire importante. La présence de groupes hydroxyle libres dans la structure des

composés phénoliques permet la conversion d'un proton en un radical hydroxyle (Terml et Smejkal, 2016).

Tableau 10 : Résultats du piégeage du radical hydroxyle exprimés en mg/mL

Extrait aqueux	Valeur
EARO	0.915 ±0.32
EATV	1.33± 0.065

La présence de groupes hydroxyle libres dans la structure des composés phénoliques permet la conversion d'un proton en un radical hydroxyle (Terml et Smejkal, 2016). L'inhibition des radicaux hydroxyles par les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes et les tanins, est étroitement liée à la structure de ces composés. La présence de groupes hydroxyle libres dans la structure des composés phénoliques permet la conversion d'un proton en un radical hydroxyle (Bhouri *et al.*, 2010) notent que l'acide gallique, isolé de l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris.L* et *Rosmarinus officinalis .L*, possèdent une activité anti-radicalaire hydroxyle. Ceci peut s'expliquer par le fait que la molécule d'acide gallique est un flavonoïde riche en groupement hydroxyle et que les flavonoïdes stabilisent les espèces réactives de l'oxygène en réagissant avec le composé réactif du radical.

5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in-vitro*

5.1. Test de la dénaturation thermique des protéines

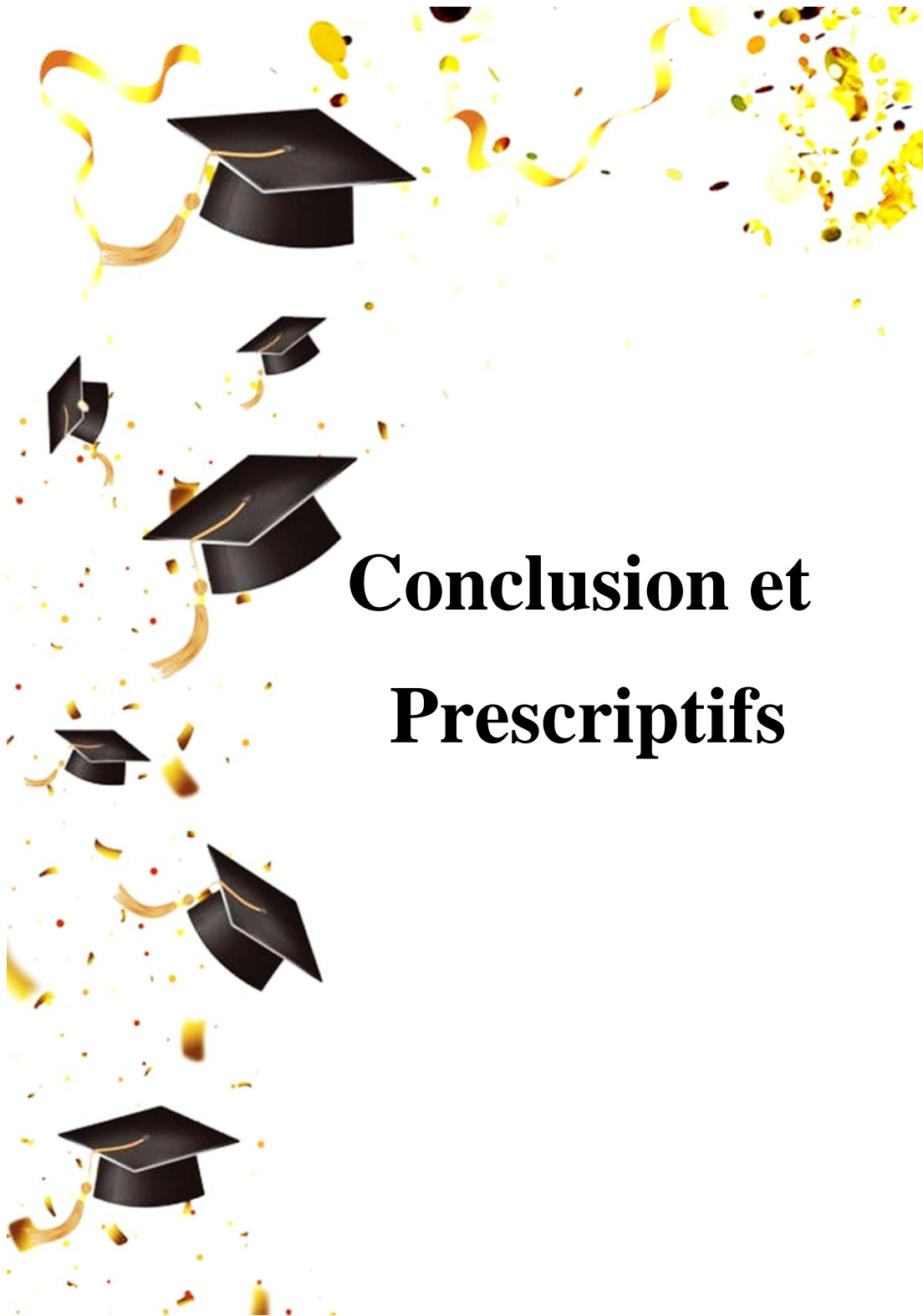
L'action anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* et *Thymu vulgaris* a été évaluée *in vitro* par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf) induite par un traitement thermique. Les résultats sur l'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine en fonction de différentes concentrations des extraits aqueux des deux plantes sont résumés dans le **tableau 10**

Tableau 11 : Inhibition de la dénaturation (%) de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par différentes concentrations des extraits aqueux par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf.

Traitements	Concentration (mg/ml)	Inhibition de la dénaturation(%)
Contrôle	-----	00
EA TV	5	48.19 ± 1.00
EA TV	10	51.90± 0.2
EA TV	20	56.14± 2.15
EA RO	5	44.39± 0.5
EA RO	10	38.15± 0.55
EA RO	20	50.69± 0.35
Aspirine	5	53.23± 2.2
Aspirine	10	91.27± 0.41
Aspirine	20	96.36± 3.46

Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine de l'œuf augmentent avec l'augmentation des concentrations des extraits des plantes *Rosmarinus officinalis L* et *Thymus Vulgaris L*. Ces résultats comparés à ceux de l'acide acétylsalicylique qui est un anti-inflammatoire révèlent que l'effet inhibiteur des extraits aqueux est dose dépendant.

L'effet inhibiteur de la dénaturation de l'albumine de l'œuf par les extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis. L* et de *Thymus Vulgaris. L* montre que ces extraits ont une activité anti-inflammatoire. Celle-ci pourrait être due à la richesse de ces extraits de *Rosmarinus officinalis. L* et de *Thymus vulgaris. L* en composés bioactifs, principalement les flavonoïdes qui exercent une forte inhibition sur la cyclooxygénase (COX) et la lipoxigénase (Kim *et al.*, 1998).



Conclusion et Prescriptifs

Conclusion

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. La présence d'antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les effets négatifs des antioxydants synthétiques encouragent à leur substitution par des agents naturels. Des investigations scientifiques ont été effectuées sur des polyphénols qui ont été isolés et caractérisés dans certaines plantes aromatiques et médicinales.

Dans ce travail, nous avons trouvé un rendement des extraits aqueux des deux plantes qui est de 12.94% et 15.91% pour le *Rosmarinus officinalis L* et *Thymus vulgaris L* respectivement et nous avons essayé de quantifier les teneurs en polyphénols, les flavonoïdes et les tanins dans les deux extraits de *Rosmarinus officinalis.L* et *Thymus vulgaris.L*. Nous avons constaté que les deux plantes sont riches en métabolites secondaires, en particulier en polyphénols avec des teneurs qui varient entre 210, 875 mg et 218,12 mg ; les teneurs en flavonoïdes varient entre 7,26 mg et 7,34 mg et les teneurs des tanins varient entre 72,85 mg et 72,14mg pour les deux espèces *Rosmarinus Officinalis L* et *Thymus vulgaris L* respectivement.

Les techniques *in vitro* ont révélé que l'extrait aqueux présente un intérêt potentiel par leurs activités anti oxydantes.

L'étude *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire a montré que les extraits aqueux des deux espèces ont une capacité anti-inflammatoire importante.

Enfin, nous proposons d'utiliser les plantes médicinales en abondance, telles que le romarin et le thymus en raison de leur grande efficacité contre les maladies inflammatoires.

Une étude pharmacologique future permettra d'évaluer l'efficacité thérapeutique et l'innocuité de ces plantes à effet anti-inflammatoire traditionnel afin de formuler un médicament traditionnel amélioré.

Référence

Bibliographiques

A

Abedini A. (2013). Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II. Français. P211.

Aguilera-Carbo A, Augur C, Prado-Barragan L A, Favela-Torres E, Aguilar C N, (2008). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 78; p 189-199.

Amarti F, (2008), Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*, **6** ; p 342-347.

Amiot J, (2005). *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de montpellier* ; pp110.

Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C , Masella R, (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di Sanità*.43(4) ; pp 348-361.

B

Baudoux D, (2000). L'aromathérapie: se soigner par les huiles essentielles. *Ed Atlantica*.

Beer A.M., Lukanov J., Sagroche V. (2007) Effect of Thymol on the spontaneous contractile activity of the smooth muscles. *Phytomedicine* **14** ; pp 65-69.

Bellakhdar J, (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed).Paris; p 764.

Bellamine K, (2017). La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques pour l'obtention du doctorat en pharmacie, UNIVERSITE MOHAMMED V – RABAT ; pp 43.

Beloued A, (1998). Plantes médicinales d'Algérie. 2ème Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger; p 274.

Boudjouref M, (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Université Ferhat Abbes Sétif. P99

Bouhdid S, Idaomar M, Zhiri A, Bouhdid D, Skali N S, Abrini J, (2006). Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir. P 324-327.

Boullard B, (2001). Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed) Paris. P 660.

Bouzabata A, (2015). Contribution a l'étude d'une plante medicinale et aromatique *Myrtus Communis L.* université Badji Mokhtar Annaba, P259.

Bruneton J, (1993). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2ème Ed Tec&Doc. Paris ; P 915

Bruneton J, (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris ; P 1120.

Bruneton J, (2009). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème Ed Tec&Doc. Paris; p 1504.

Buchanan B, Gruissem W, Jones R, (2000). American Society of Plant Physiologists. Chapitre 24; p 1250-1318.

C

Cairns R A, Harris I S, Mak T W, (2012). Regulation of cancer cell metabolism. Nat Rev Cancer.; 11(8) ; p 85-95. *L'actualité Chimique*, p 108-115.

Carr, A. C., Zhu, B. Z., Frei, B, (2000). Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate(vitaminC) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res.* **7(5)**, p 349–354.

Chabrier J, Y, (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Pharmacie : Université Henri Poincare – Nancy 1, P 183.

Chira K, Suh J H, Saucier C, Teissèdre P L, (2008). Les polyphénols du raisin. Phytothérapie, (6), p75-82.

Chouiha O, Houacine A, (2018). Contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des deux plantes médicinales : Thymus hirtus et Rosmarinus tournefortii. P 85.

CUQ J L, (2006). Biochimie des protéines. Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaire université de Montpellier. P6.

D

Dai J, Mumper R J, (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15 ; P 7313-7352.

Defraigne J O, Pincemail J, (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev. Med. Liège.* 63; pp 10 -19.

F

Fahim F, Esmat A, Fadel H, Hassan K, (1999). Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(6), p 413-427.

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

Ferdjioui S, (2020). Activités biologiques de deux plantes médicinales *Mentha rotundifolia* L et *Lamium amplexicaule* L. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbès Sétif. Option biochimie ; p 96.

Fogliani B, Bouraïma-Madjebi S, Cabalion P, Pineau R, (2002) a. Screening of 50 Cunoniaceae species from New Caledonia for antimicrobial properties. *New Zealand Journal of Botany* 40, p 511-520.

Foley D J. (1974). Herbs for Use and for Delight: An Anthology from the Herbarist, a Publication of the Herb Society of America: Courier Corporation .p 114.

Fogliani B, Bouraïma-Madjebi S, Medevielle V, Pineau R, (2002)b. Screening of Fifty Cunoniaceae Species from New Caledonia for Inhibitors of Xanthine Oxidase and Scavengers of Superoxide Anions. *Pharmaceutical Biology* 40 (7), p 526-533.

G

Ghelichnia H, (2016). Essential oil composition of three species of thymus growing wild in mazandaran, Iran. *Cercetari Agronomice in Moldova.* 49 (2); p 107-113.

Giordani R, Kaloustian J, (2006) . Action anticandidosique des huiles essentielles: leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques *J Phytothérapie*, Numéro 3 ; p 121-124.

H

Haloui M, Louedec L, Michel, J B, Lyoussi B, (2000). Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *Journal of ethnopharmacology*, 71(3), p 465- 472.

Hamedo H A, Abdelmigid H M, (2009). Use of antimicrobial and genotoxicity potentiality for evaluation of essential oils as food preservatives. *The Open Biotechnology Journal*, 3(1).p 114.

Harris A L, (2002). Hypoxia a key regulatory factor in tumor growth. *Nature Reviews Cancer*. Vol 2(1); pp. 38-47.

Hartmann T, (2007). From waste products to ecochemicals : Fifty years research of Plant secondary metabolism, Review. *Phytochemistry* 68 ; p 2831–2846.

He Z , Xia W, Chen J, (2008). Isolation and structure elucidation of phenolics compounds In Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology*. 226 ; p 1191-1196 .

Heller W, Formant G, (1993). Biosynthesis of Flavonoids. In *The Flavonoids: Advances in research since 1986*.p 244.

Hosseinzadeh H, Nourbakhsh M, (2003). Effect of *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytotherapy research*, 17(8), p 938-941.

Hudaib M, Speroni E, Pietra A M D, Carvin V, (2002). GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29; p 691-700.

I

Ibarra A, Cases J, Roller M, Chiralt-Boix A, Coussaert A, Ripoll C, (2011). Carnosic acid-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice on a high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 106(8), p 1182-1189.

Ignat I, Volf V I, Popa A, (2011). Critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables *Food Chemistry*, 126 ; p 1821.

Iserin P , Masson M, Restellini J P, Ybert E, De Laage de Meux A, Moulard F , De la Roque R , De la Roque O ,Vican P , Deesalle Féat T , Biaujeaud M , Ringuet J , Bloth J, Botrel A, (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, Soins : Ed Larousse (p 10-12).

Iserin P, (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, pp10, 335.

J

Judd W S, Campbell C S, Kellogg E A, Stevens P F, Donoghue M J, (2002). Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. 2nd Ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA. P 576.

Juhás Š, Bujňáková D, Rehák P, Čikoš Š, Czikková S, Veselá J, Il'ková G, Koppel J, (2008). Anti-inflammatory effects of thyme essential oil in mice. Acta Vet Brno 77; p 327-33.

K

Khalil E A, Afifi F U, Al-Hussaini M, (2007). Evaluation of the Wond healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *J. Ethnopharmacology*. 109; p 104-112.

Khan N, Al-Daghri N M, Al-Ajlan A S, Alokail M S, (2014). The use of natural and derived sources of flavonoids and antioxidants in Saudi Arabia. Integrative Food Nutrition and Metabolism. 1 (2); p 100-106.

Kim H J, Wood E R, Shin C G, Park H, (1998). A new avonol gallate ester from Acer and its inhibitory activity against HIV-1 integrase. *Journal of Natural Products* 61; p 145–148.

Kim H P, MANI I, IVERSEN L, ZIBOH V, (1998). Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea pigs. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 58(1), p 17-24

Kosar M, Dorman H J D Hiltunen R, (2005). Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chemistry* 91; p 525–533.

Kulšić T, Dragovic-Uzelac V, Miloš M, (2006). Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4); p 485-492.

L

Lara M, Gutierrez J, Timon M, Andrés A, (2011). Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. *Meat Science*, 88(3), p 481-488.

Laraoui H, (2007). Etude phytochimique de l'extrait chloroformique de *Bulpleurum Atlanticum*, Thèse de Magister, Université El Hadj Lakhdar Batna, Option : chimie organique ; 127pp.

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

Lee S J, Umamo K, Shibamoto T, Lee K G, (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thym leaves (*Thymus vulgaris*) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*. 91; p 131-137.

M

Maceij S, (2000). Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides. *Phytochemistry* 54 (3); p 237-256.

Mann C M, Cox S D, Markham J L, (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* contributes to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), *Letters in appl. Microbiol.* 30; p 294-297.

Meziti A, (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L: étude in vitro et in vivo. Mémoire de magister. Université El-Haj Lakhdar. Batna. P 105.

McCalley DV, (2002). Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*, 967; 1-19pp.

Mohamadi, Z, (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. p 36-67.

Monod T, (1978). Les Rosas de Sancta Marya de Gil Eanes (1434): Junta de Investigações Científicas do Ultramar. p 114.

Moss M, Cook J, Wesnes K, Duckett P, (2003). Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. *International Journal of Neuroscience*, 113(1), p15-38.

N

Nieto G, Huvaere K, Skibsted LH, (2011). Antioxidant activity of Rosemary and Thyme by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system. *European Food Research and Technology*. 233 (1): p 11-18.

Nimse S B, Pal D, (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms / *RSC Adv* 45.

O

Olthof M R, Hollman P C, Katan M B, (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of nutrition*, 131(1), p 66-71.

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

OMS : Organisation mondiale de la Santé, (2012). Médecine traditionnelle : des textes anciens aux nouveaux médicaments, 90 (8), pp 557-632.

Orban J C, (2010). Oxygène, Stress Oxydant. Chapitre : Désordres Métaboliques Et Réanimation. P 427-437.

Orhan I, Aslan S, Kartal M , Sener B, Baser K H C, (2008). Inhibitory Effect of Turkish *Rosmarinus officinalis* L. on Acetyl cholinesterase and Butyryl cholinesterase Enzymes. *Food Chemistry*.108; p 663-668.

P

Paris R, Moyse M, (1965). Précis de matière médicale. Edit. Masson. Paris. P 412 .

Paris R, Nothis A, (1969). Sur quelques plantes de Nouvelle-Calédonie. *Plantes médicinales et phytothérapie* III (4), p 274-287.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne J O, (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. Vaisseaux, cœur, poumons. P 74.

Pourrut B, (2008) Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Université de Toulouse ; p 51.

Pharmacopée Française, (1998). Xème Edition. Méthodes générales d'analyses: Indice de mousse. P 1491-1492.

Q

Quezel P, Santa S, (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du centre national de la recherche scientifique: Paris (France), p 34, 132.

R

Rahmani H, (2017). Contribution à l'étude phytochimique et valorisation de l'espèce *Agave americana* L. dans l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes ; p 135.

Rao C V, (2004). Nitric oxide signaling in colon cancer chemoprevention. *Mutation Research*, 555 (1 2): p 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): p 2-7.

Roux D, (2008). Conseil en aromathérapie, 2ème édition Pro-officina, mars. P 194.

S

Schrader, M, Fahimi H D, (2006). Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1763: p 1755–1766.

Senatore F, (1996). Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of Thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food. Chem.* 44: p 1327-1332.

Senevirathne M, Kim S H, Siriwardhana N, Ha J H, Lee K W, Jeon Y J, (2006). Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food Sci Tech Int* 12(1): p 27-38.

Serrano F, Klann E, (2004). Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. *Ageing Research Reviews*. 3 ; p 431–443.

Strang C, (2006). Larousse médical : Ed Larousse ; P 26.

T

Talbi H, boumaza A, El-mostafa K, Talbi J, Hilali A, (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanoliques et aqueux de la *nigellasativa L.* (evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *nigellasativa L.*) *mater environ Sci*, 6 ; p 1111-1117.

Trachootham D, Alexandre J, Huang P, (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat Rev Drug Discov*; 18(2): p 579-91.

Tremellen, K, (2008). Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Human reproduction update*, 14(3) ; p 243-258.

V

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M T D, Mazur M, Telser J, (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39, p 44-84.

W

Waller S B, Madrid I M , Hoffmann J F, Picoli T, Cleff M B, Chaves F C, Faria R O, Meireles M C A, Mello J R B, (2017). Chemical composition and cytotoxicity of extracts of marjoram and rosemary and their activity against *Sporothrix brasiliensis*. *Journal of Medical Microbiology*; 66: p 1076-1083.

Wang J, Yi J, (2008). Cancer cell killing via ROS. To increase or decrease, that is the question. *Cancer Biology & therapy*. 7(12): p 1875-84.

Williams C A, Grayer R J, (2004). Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep.* Vol. 21(4); p 539-573.

Y

Yakhlef G, (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *thymus vulgaris* et *laurusnobilis L.* Thèse de magister en biologie. Université El Hadj Lakhdar, Batna, p.78.

Yang J, Guo J, Yuan J, (2008). In vitro antioxidant properties of rutin, LWT, Vol. 41; p 1060-1066.

Z

Zeghib A, (2013). Etude phytochimique et activités antioxydante ; antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*. ; p 32-36.

Zeghad N, (2008). Etude Du Contenu Polyphénolique De Deux Plantes Médicinales D'intérêt Economique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) Et Evaluation De Leur Activité Antibactérienne. Thèse de Magister : Biotechnologie Végétale. Université de Constantine. P 130.