



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Biotechnologie et valorisation des plantes »

THÈME

Étude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux
et de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus*

Présenté Par :

BOUTARBOUCHA Omran

Membres de Jury:

Directrice de mémoire: Mme CHEKCHAKI Narimene Maître de conférences B, Université d'El Tarf

Présidente: Melle BOURAIOU Chiraz Maître de conférences B, Université d'El Tarf

Examinatrice: Melle RIDA Soumeya Maître de conférences B, Université d'El Tarf

Année universitaire 2024 - 2025

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail particulièrement

À chère **ma mère**. Aucune dédicace ne saurait être assez convaincante pour exprimer mon amour éternel et ce que tu mérites pour tous les sacrifices consentis depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

À **mon père**. Rien au monde ne vaut les efforts fournis pour mon éducation et mon bien-être.

Que Dieu le tout puissant te garde et te procure santé, bonheur et longue vie.

À mes chers frères **Idris, Amour, Youcef** pour leur soutien moral et leur sacrifices tout au long de ma formation.

À mes amis et mes collègues. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude. Je les remercie pour leur présence dans les moments difficiles. Merci pour vos encouragements

À toute la famille **Boutarboucha**

À mon encadrant Mme **CHERCHAKI Narimène**, d'avoir partagé votre passion pour l'enseignement.

J'ai grandement apprécié votre soutien et de m'avoir guidé dans l'élaboration de ce mémoire.

À mes enseignants et à mes camarades de master « **Biotecnologie et Valorisation des Plantes** ».

Remerciements

A l'issu de ce travail ...avant tout ...je remercie الله le tout puissant qui m'a donné la volonté, le courage et la patience, qui a éclairé nos chemins pour accomplir ce travail et dépasser toutes les difficultés.

Je remercie de manière très particulière

Mme le Docteur **CHEKCHAKI Narimene.**

D'avoir contribué à l'encadrement de mon travail, pour sa patience, sa disponibilité et ses conseils.

Ce travail n'aurait pu avancer sans son aide.

Je tiens aussi à exprimer mes profonds remerciements au membres de jury, Mademoiselle le Docteur **BOURAIYOU C.** de m'avoir fait l'honneur de présider le jury ; et Mademoiselle le Docteur **RIDA S.** d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail.

A l'ensemble du personnel administratif, Ingénieurs et Techniciens de laboratoires qui ont contribué à ce travail.

Merci !

Je remercie également tous mes enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, ainsi que les étudiants de la promotion Master Biotechnologie et Valorisation des Plantes 2025.

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

RESUME

Cette recherche a eu pour objectif d'identifier les composés et d'évaluer l'activité antioxydante de *Thymus munbyanus*, en comparant son extrait aqueux et son huile essentielle.

Les méthodes ont impliqué l'extraction par décoction pour l'extrait aqueux et par hydrodistillation pour l'huile essentielle. La composition phytochimique a été analysée par dosages colorimétriques pour les phénols totaux, les flavonoïdes totaux et les tanins condensés. L'activité antioxydante a été mesurée *in vitro* via le test DPPH, déterminant le pourcentage d'inhibition et la CI_{50} . Une étude de corrélation a également été menée pour établir les liens entre les composés et l'activité.

Les résultats ont révélé que l'huile essentielle était significativement plus riche en phénols totaux et flavonoïdes totaux que l'extrait aqueux. Cependant, l'extrait aqueux a montré une activité antioxydante supérieure (CI_{50} plus faible), bien qu'il ait une teneur plus faible en ces mêmes composés. Une forte corrélation positive a été observée entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante, soulignant leur rôle essentiel.

En conclusion, cette étude met en lumière les profils distincts des extraits de *Thymus munbyanus*. L'huile essentielle est une source concentrée de composés phénoliques, tandis que l'extrait aqueux démontre une efficacité antioxydante notable, potentiellement due à la synergie de ses constituants et leur polarité. Des études complémentaires sur l'identification des composés spécifiques dans chaque extrait et l'évaluation de leur biodisponibilité *in vivo* seraient nécessaires pour approfondir ces découvertes et maximiser la valorisation de cette espèce de thym.

Mots-clés : *Thymus munbyanus*, activité antioxydante, composés phénoliques, extrait aqueux, huile essentielle.

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تحديد المركبات وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لنبات *الزعرتر الجبلي* مقارنة بمقارنة المستخلص المائي والزيت العطري المستخلص منه.

شملت الأساليب المستخدمة التقطير للحصول على المستخلص المائي والتقطير بالماء للحصول على الزيت العطري. تم تحليل التركيب الكيميائي النباتي بواسطة فحوصات لونية لتقدير الفينولات الكلية، الفلافونويدات الكلية، والتانينات المكثفة. تم قياس النشاط المضاد للأكسدة *in vitro* عبر اختبار DPPH، بتحديد نسبة التثبيط وقيمة IC_{50} . كما أجريت دراسة ارتباطية لتحديد الروابط بين المركبات والنشاط.

كشفت النتائج أن الزيت العطري كان غنياً بشكل ملحوظ بالفينولات الكلية والفلافونويدات الكلية مقارنة بالمستخلص المائي. ومع ذلك، أظهر المستخلص المائي نشاطاً مضاداً للأكسدة متفوقاً قيمة IC_{50} أقل، على الرغم من انخفاض محتواه من نفس المركبات. لوحظ ارتباط إيجابي قوي بين المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة، مما يؤكد دورها الأساسي.

في الختام، تسلط هذه الدراسة الضوء على الخصائص المتميزة لمستخلصات نبات *الزعرتر الجبلي*. يُعد الزيت العطري مصدرًا مركّزًا للمركبات الفينولية، بينما يُظهر المستخلص المائي فعالية ملحوظة مضادة للأكسدة، قد تكون نتيجة لتأزر مكوناته وقطبيتها. ستكون الدراسات التكميلية لتحديد المركبات المحددة في كل مستخلص وتقييم توافرها البيولوجي في الجسم الحي ضرورية لتعميق هذه الاكتشافات وتعظيم استغلال هذا النوع من الزعرتر.

الكلمات الدالة: زعرتر مونيبانوس، النشاط المضاد للأكسدة، مركبات فينولية، مستخلص مائي، زيت عطري.

ABSTRACT

This research aimed to identify the compounds and evaluate the antioxidant activity of *Thymus munbyanus*, by comparing its aqueous extract and its essential oil.

The methods involved decoction for the aqueous extract and hydrodistillation for the essential oil. The phytochemical composition was analyzed using colorimetric assays for total phenols, total flavonoids, and condensed tannins. Antioxidant activity was measured *in vitro* via the DPPH test, determining the percentage of inhibition and the IC₅₀. A correlation study was also conducted to establish links between the compounds and the activity.

The results revealed that the essential oil was significantly richer in total phenols and total flavonoids than the aqueous extract. However, the aqueous extract showed superior antioxidant activity (lower IC₅₀), despite having a lower content of these same compounds. A strong positive correlation was observed between phenolic compounds and antioxidant activity, highlighting their essential role.

In conclusion, this study sheds light on the distinct profiles of *Thymus munbyanus* extracts. The essential oil is a concentrated source of phenolic compounds, while the aqueous extract demonstrates notable antioxidant efficacy, potentially due to the synergy of its constituents and their polarity. Further studies on the identification of specific compounds in each extract and the evaluation of their *in vivo* bioavailability would be necessary to deepen these discoveries and maximize the valorization of this thyme species.

Keywords: *Thymus munbyanus*, antioxidant activity, phenolic compounds, aqueous extract, essential oil.

Dédicace
Remerciements

Sommaire

RESUME	I
الملخص	II
ABSTRACT	III
SOMMAIRE	IV
TABLE DES MATIERES	V
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :	
CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES.....	02
CHAPITRE II. LES ELEMENTS ACTIFS DES PLANTES MEDICINALES.....	08
PARTIE EXPERIMENTALE :	
MATERIEL ET METHODES	14
RESULTATS & DISCUSSION	20
CONCLUSION	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	28
ANNEXES	34

Table des matières

RESUME	I
المخلص	II
ABSTRACT	III
SOMMAIRE	IV
TABLE DES MATIERES	V
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :	
CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES.....	02
1. Définition des plantes médicinales.....	02
2. Aperçu historique de l'utilisation des plantes médicinales.....	02
3. Le Thym : <i>Thymus munbyanus</i>	03
3.1. Historique de l'utilisation du thym en médecine traditionnelle.....	03
3.2. Caractéristiques botaniques	04
3.3. Répartition géographique	05
3.4. Activités biologiques.....	07
CHAPITRE II. LES ELEMENTS ACTIFS DES PLANTES MEDICINALES.....	08
1. Les métabolites secondaires.....	08
1.1. Définition et Fonctions.....	08
1.2. Classification des métabolites secondaires.....	08
1.3. Biosynthèse des métabolites secondaires.....	10
2. Action des métabolites sur les radicaux libres.....	10
2.1. Radical libre et stress oxydatif	11
2.2. Mécanismes d'action antioxydant des métabolites secondaires.....	11
3. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés actifs.....	12
PARTIE EXPERIMENTALE :	
BUT ET OBJECTIFS.....	13
CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES	14
1. Etude de la composition chimique et des propriétés anti-oxydantes de la plante choisie.....	14
1.1. Extraction du matériel végétal.....	14
1.1.1. L'extrait aqueux.....	14
1.1.2. L'huile essentielle.....	14
1.2. Dosages colorimétriques des composés phénoliques.....	14
1.2.1. Dosage des phénols totaux.....	14
1.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	15
1.2.3. Dosage des tanins condensés.....	16
1.3. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro : Méthode DPPH.....	18
2. Traitement statistique.....	19

CHAPITRE II. RESULTATS & DISCUSSION	20
1. La composition chimique & les propriétés antioxydantes des deux extraits de <i>Thymus munbyanus</i>	20
1.1. Dosage des composés phénoliques.....	20
1.2. Activité antioxydante.....	22
1.3. Etude des corrélations.....	22
2. Discussion.....	23
CONCLUSION	26
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	28
ANNEXES	34

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Description botanique du <i>Thymus munbyanus</i>	04
02	Distribution géographique de thym dans le monde	06
03	Classification des métabolites secondaires	09
04	Schéma du protocole expérimental	13
05	Concentration des phénols totaux de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de <i>Thymus munbyanus</i>.	20
06	Concentration des flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de <i>Thymus munbyanus</i>.	21
07	Concentration des tanins condensés de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de <i>Thymus munbyanus</i>.	21
08	Concentration de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de <i>Thymus munbyanus</i> pour 50% d'inhibition de radicaux libres de DPPH.	22

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	la classification détaillée du Thymus munbyanus	05
02	Les étapes de préparation de la gamme étalon de l'acide gallique.	15
03	Les étapes de préparation de la gamme étalon de la quercétine	16
04	Les étapes de préparation de la gamme étalon de la quercétine.	17
05	Les étapes de préparation de la gamme étalon du DPPH	19
06	Corrélations entre la quantité en phénols des extraits et le test DPPH.	22

INTRODUCTION

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales occupent une place centrale dans les pratiques de soin à travers le monde. Utilisées d'abord de manière empirique dans les médecines traditionnelles, elles sont aujourd'hui au cœur de nombreuses recherches scientifiques qui visent à comprendre, isoler et valoriser leurs principes actifs [1, 2].

Face à la recrudescence de certaines maladies chroniques et aux limites des traitements chimiques, l'intérêt pour les remèdes naturels ne cesse de croître [3, 4]. Les plantes médicinales représentent ainsi une alternative prometteuse dans la prévention et le traitement de diverses affections, en raison de leur richesse en composés phytochimiques aux propriétés thérapeutiques variées, notamment antioxydantes [5, 6], antimicrobiennes [7, 8], anti-inflammatoires et bien d'autres [9, 10].

Dans ce contexte, les plantes aromatiques et médicinales, telles que le *Thymus munbyanus* (thym de Munby), occupent une place de choix en raison de leur richesse en composés phytochimiques bioactifs et de leurs propriétés pharmacologiques avérées [11].

Dans un monde confronté au stress oxydatif et à ses conséquences sur la santé humaine, il devient crucial d'identifier et de valoriser des sources naturelles d'antioxydants. Comprendre l'action antioxydante des métabolites secondaires est essentiel pour la recherche de nouveaux médicaments, de compléments alimentaires et de stratégies pour prévenir les maladies liées au stress oxydatif [11].

Ainsi, la présente étude a été entreprise d'abord afin de valoriser une plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle, mais encore peu exploitée de manière approfondie en laboratoire à savoir *Thymus munbyanus*. D'autre part, il s'inscrit dans une dynamique de recherche de solutions naturelles aux déséquilibres oxydatifs impliqués dans de nombreuses pathologies (maladies cardiovasculaires, vieillissement cellulaire, etc.). Il offre ainsi des perspectives intéressantes pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires.

Dans ce mémoire, nous proposons dans une première partie de définir et d'établir l'importance des plantes médicinales dont le thym ainsi que les différents éléments actifs (métabolites secondaires) des plantes ; et dans une seconde partie, pratique, de mettre en évidence et de comparer la teneur en quelques composés phénoliques et l'activité antioxydante de deux extraits du thym : l'huile essentiel et l'extrait aqueux de ses feuilles.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES

Les plantes médicinales occupent depuis toujours une place importante dans la vie de l'homme. Avant l'avènement de la médecine moderne, elles constituaient l'unique source de remède contre les maladies, utilisées à travers différentes civilisations. Aujourd'hui encore, elles continuent de susciter l'intérêt des chercheurs et des professionnels de santé en raison de leurs multiples vertus thérapeutiques [1, 3].

Ce chapitre vise à clarifier le concept de plante médicinale, retracer brièvement son usage à travers l'histoire, et mettre en lumière son rôle actuel dans le domaine de la santé.

1. Définition des plantes médicinales

Les plantes peuvent être classées selon leurs propriétés et usages en trois grandes catégories : médicinales, aromatiques et toxiques, bien que certaines espèces puissent appartenir à plusieurs catégories en même temps, selon la dose ou la partie utilisée [12, 13].

Les plantes médicinales sont des espèces végétales contenant des substances actives (ou principes actifs) utilisées à des fins préventives ou curatives. Ces substances peuvent être extraites sous forme de tisanes, décoctions, extraits aqueux, teintures ou huiles essentielles, et sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, comme les propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes ou antimicrobiennes [12, 14, 9, 8, 6].

2. Aperçu historique de l'utilisation des plantes médicinales

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales ont été au cœur des pratiques thérapeutiques dans diverses civilisations :

- Les **Égyptiens** furent parmi les premiers à consigner par écrit leurs connaissances médicales, notamment dans le **Papyrus Ebers**, il décrit environ **700 remèdes**, dont une large majorité à base de plantes (aloès, coriandre, ail, myrrhe...) [15, 16].
- La médecine **grecque** a introduit une approche plus rationnelle ; **Hippocrate** (460–370 av. J.-C.), valorisait les plantes ; plus tard, **Dioscoride**, rédigea *De Materia Medica*, un ouvrage de référence sur plus de 600 plantes médicinales [17, 18, 19].
- La médecine traditionnelle **chinoise**, repose en grande partie sur l'usage de plantes médicinales [20, 21].
- Entre le VIII^e et le XIII^e siècle, la civilisation **islamique** a vu un essor remarquable de la médecine et de la pharmacognosie. Des savants comme **Avicenne (Ibn Sina)**, dans son

Canon de la médecine, ou **Al-Razi (Rhazes)**, ont intégré les savoirs grecs, perses, indiens et ont enrichi la connaissance des plantes médicinales [22, 23].

Ainsi, les peuples du monde entier ont développé des systèmes médicaux adaptés à leurs environnements naturels et à leurs traditions culturelles. Transmise oralement ou par écrit de génération en génération, la médecine traditionnelle constitue un patrimoine immatériel précieux qui reflète la relation intime entre l'homme et la nature [24].

Aujourd'hui, dans de nombreux pays, la médecine traditionnelle est reconnue comme complémentaire à la médecine conventionnelle. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) encourage son intégration dans les systèmes de santé nationaux, à condition que son usage soit sécurisé, efficace et scientifiquement validé encadrées par des sources légales et des pharmacopées officielles [24, 25].

3. Le Thym : *Thymus munbyanus*

3.1. Historique de l'utilisation du thym en médecine traditionnelle

L'histoire de l'utilisation du thym en médecine traditionnelle est profondément enracinée dans l'Antiquité. Les Égyptiens employaient le thym pour ses propriétés purificatrices, notamment dans le processus d'embaumement, une pratique qui témoigne d'une reconnaissance de ses capacités antimicrobiennes et conservatrices [26]. Les Grecs, associaient le thym à des usages qui étaient censés procurer force et bien-être [26, 27]. Des auteurs classiques comme *Théophraste et Dioscoride* ont documenté l'existence de différentes variétés de thym et leurs applications médicinales, posant les bases de la phytothérapie [26]. Les Romains ont également intégré le thym dans leurs pratiques sanitaires et culinaires, et pour ses propriétés médicinales, comme le soulagement des troubles respiratoires et la promotion du sommeil [26, 27].

Au fil des siècles, ces usages traditionnels ont persisté et se sont diversifiés. Les recherches scientifiques contemporaines ont permis de valider un grand nombre de ces applications traditionnelles [26].

Ainsi, l'historique de l'utilisation du thym en médecine traditionnelle n'est pas seulement un recueil de pratiques ancestrales, mais une base solide sur laquelle la recherche scientifique moderne a pu bâtir, confirmant et expliquant les vertus de cette plante polyvalente.

3.2. Caractéristiques botaniques

A. Description

Le thym est une plante sous-ligneuse de petite taille, atteignant généralement jusqu'à 40 cm de hauteur. Ses feuilles, de couleur vert foncé, mesurent entre 4 et 10 mm de long et présentent une forme elliptique à oblongue avec une courte tige. Ces feuilles, ainsi que les calices et les jeunes tiges, sont caractérisées par la présence de poils et de glandes spécialisées appelées trichomes. Ces structures sont essentielles car elles contiennent l'huile essentielle du thym, majoritairement composée de monoterpènes, libérant ainsi l'arôme distinctif de la plante au simple contact [28].

Les fleurs du thym (**Figure n°1**) sont petites et zygomorphes, regroupées en glomérules. Leur couleur varie du blanc au rose et au violet [29, 30]. La floraison a lieu entre avril et septembre, et ces fleurs sont particulièrement appréciées des abeilles [31]. La durée de vie du thym est généralement comprise entre 4 et 7 ans [32].



Figure n°1 : Description botanique du *Thymus munbyanus* [33].

B. Classification

La classification scientifique du *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. suit la hiérarchie taxonomique standard, allant du règne le plus large à l'espèce spécifique, et inclut des sous-espèces reconnues. Cette classification (**Tableau I**) est largement acceptée par les bases de données taxonomiques telles que GBIF et Plants of the World Online (Kew Science) [34, 35, 36, 37].

Tableau I : la classification détaillée du *Thymus munbyanus*.

Rang Taxonomique	Nom Scientifique
Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Sous-embranchement	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus munbyanus</i>

3.3. Répartition géographique

A. Dans le monde

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées. Selon Dob *et al.*, 2006, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (**Figure n°2**). C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Algérie, Maroc, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par Nickavar *et al.*, 2005, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen [38].

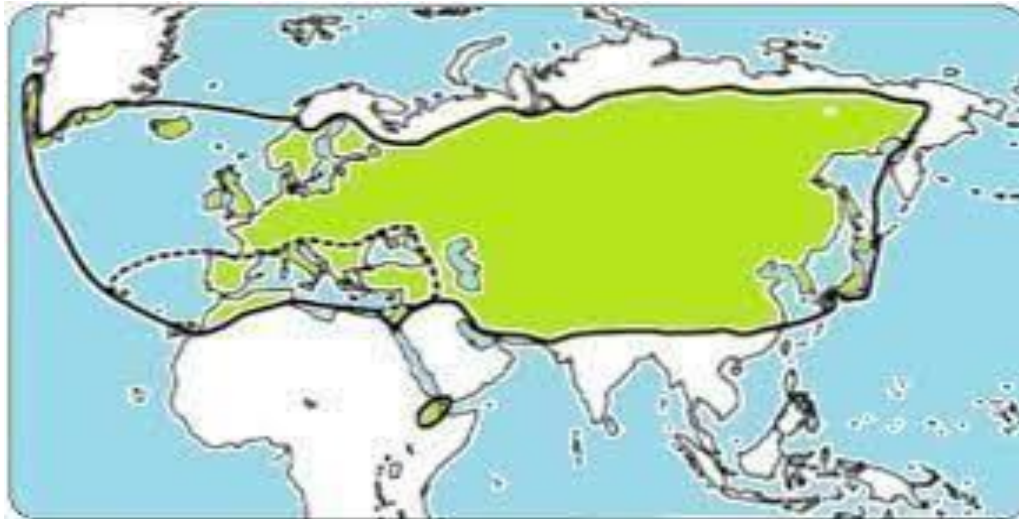


Figure n°2 : Distribution géographique de thym dans le monde [39].

Cercle noir : la zone de distribution du genre *Thymus* dans le monde.

B. En Algérie

Thymus munbyanus est trouvé dans différentes zones de l'Algérie, soulignant son adaptabilité aux divers climats et écosystèmes du pays. Le genre *Thymus* est très répandu en Algérie, couvrant le littoral ainsi que des régions internes et même des zones arides [40]. La flore algérienne, grâce à sa diversité bioclimatique, abrite plusieurs espèces de thym, y compris *Thymus munbyanus* et ses sous-espèces.

Des études ethnobotaniques et floristiques ont confirmé la présence de *Thymus munbyanus* dans des régions telles que l'Atlas Tellien Occidental de Tiaret, situé au nord-ouest de l'Algérie, caractérisé par de vastes zones montagneuses forestières et un climat semi-aride [41]. La région d'Annaba, dans le Nord-Est algérien, est également connue pour sa richesse en espèces végétales endémiques et rares, incluant des taxons du genre *Thymus* [42].

Globalement, l'espèce est présente le long du territoire national, depuis le Nord Algérois jusqu'à l'Atlas Saharien, et du Constantinois à l'Oranais [40]. On la trouve dans des habitats variés tels que les pelouses, les rocailles et les régions montagneuses [33].

Il est important de noter que *Thymus munbyanus* est une espèce polymorphe, ce qui signifie qu'elle présente une grande variabilité morphologique, et que ses sous-espèces (*munbyanus*, *abylaeus*, *ciliatus*, *coloratus*) peuvent être difficiles à distinguer précisément et sont parfois considérées à titre indicatif par les botanistes [33, 43]. Cette variabilité contribue à sa large répartition et à son adaptation à différents microclimats en Algérie.

3.4. Activités biologiques

Comme d'autres espèces du genre *Thymus*, *Thymus munbyanus* a une longue histoire d'utilisation en médecine populaire. Cette espèce est couramment employée en Afrique du Nord pour traiter une vaste gamme de maux. Des revues et des études ethnobotaniques ont documenté son usage pour :

- **Les affections respiratoires** : Il est traditionnellement utilisé pour le traitement des maladies respiratoires, y compris la toux, la bronchite, et les rhumes [44, 45, 46, 48].
- **Les troubles gastro-intestinaux** : Il est également employé pour les problèmes digestifs tels que la diarrhée, les coliques, les douleurs d'estomac, la dysenterie, et les ulcères intestinaux [44, 45, 46, 47, 48].
- **Des maladies diverses** : *Thymus munbyanus* est traditionnellement appliqué pour traiter des maladies circulatoires, génitales, cutanées (y compris les plaies et les zones infectées), urinaires, nerveuses, et les dysfonctionnements endocriniens [44, 45, 46, 47, 48].
- **Propriétés anti-inflammatoires** : Au Maroc, il est spécifiquement reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires, qu'il soit administré par voie orale ou topique [45].

Les recherches scientifiques ont commencé à confirmer les raisons de ces usages traditionnels, en se penchant sur la composition chimique de *Thymus munbyanus*. Les extraits de cette plante sont riches en une grande variété de composés phénoliques, notamment des polyphénols et des phénols volatils. Les huiles essentielles de *T. munbyanus* sont particulièrement riches en thymol et carvacrol, mais aussi en p-cymène et γ -terpinène [44, 46].

Ces composés bioactifs sont responsables des nombreuses activités biologiques rapportées pour cette espèce, incluant de puissantes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (antibactériennes et antifongiques) [44, 46, 47]. Des études ont également mis en évidence ses propriétés néphroprotectrices, hépatoprotectrices et cytotoxiques contre certaines cellules tumorales [44]. La richesse en polyphénols, y compris les flavonoïdes et les acides phénoliques (tels que l'acide rosmarinique et l'acide caféique), contribue significativement à son importante capacité antioxydante [44, 46, 47].

En Algérie, des études ethnobotaniques récentes ont réaffirmé l'importance de *Thymus munbyanus* dans la médecine populaire, soulignant son utilisation pour les troubles respiratoires, gastro-intestinaux et les dysfonctionnements endocriniens [45, 48].

CHAPITRE II. LES ELEMENTS ACTIFS DES PLANTES MEDICINALES

1. Les métabolites secondaires

1.1. Définition et Fonctions

A. Définition

Les métabolites secondaires sont des produits naturels dotés d'une grande diversité structurale et fonctionnelle. Leur synthèse est souvent induite par des signaux environnementaux ou des conditions de stress, et ils sont généralement produits en faibles quantités [49, 50].

B. Fonctions

Les fonctions des métabolites secondaires sont très diverses et essentielles pour l'adaptation et la survie des organismes dans leur environnement. Ils agissent comme des agents de défense contre les herbivores (insectes, mammifères) et les pathogènes (bactéries, champignons, virus) en étant toxiques, répulsifs ou antialimentaires [49, 50, 51]. Ils peuvent aussi être libérés dans l'environnement pour inhiber la croissance d'espèces végétales concurrentes ou repousser des micro-organismes du sol [49].

Certains métabolites secondaires sont des pigments (comme les flavonoïdes ou les caroténoïdes) ou des composés volatils (terpènes) qui attirent les insectes pollinisateurs ou les animaux disperseurs de graines [49, 51].

Certains protègent l'organisme contre les rayons UV (certains flavonoïdes), la sécheresse, les températures extrêmes ou le stress oxydatif [49, 50]. Chez certains organismes, ils fonctionnent comme des phéromones ou des signaux chimiques pour la communication intra- ou interspécifique [49].

1.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont regroupés en grandes familles chimiques basées sur leurs structures et leurs voies de biosynthèse (**Figure n°3**). Les principales classes sont [49, 50, 52] :

A. Terpénoïdes (ou Isoprénoïdes) : Dérivés d'unités isoprènes. Cette vaste classe comprend les **monoterpènes** (C10, comme le thymol, le menthol), les **sesquiterpènes** (C15), les **diterpènes** (C20, comme le taxol), les **triterpènes** (C30, comme les saponines, les

stéroïdes végétaux), les **tétraterpènes** (C₄₀, comme les caroténoïdes), et les **polyterpènes** (comme le caoutchouc). Ils sont souvent responsables des arômes, des pigments et jouent un rôle dans la défense et la signalisation.

- B. Composés Phénoliques** : Caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques avec des groupements hydroxyle. Dérivés principalement de la voie du shikimate. On y trouve les **flavonoïdes** (anthocyanes, isoflavones, flavones), les **acides phénoliques** (acide caféique, acide rosmarinique), les **tanins** (polymères astringents), les **lignanes** et les **coumarines**. Leurs fonctions incluent la protection antioxydante, la pigmentation, la défense contre les UV et les agents pathogènes.
- C. Alcaloïdes** : Composés azotés, généralement hétérocycliques, avec une activité physiologique marquée chez les animaux. Dérivés principalement d'acides aminés. Exemples célèbres : caféine, nicotine, morphine, quinine, cocaïne, atropine. Ils sont souvent utilisés comme mécanismes de défense en raison de leur toxicité.
- D. Glycosides (ou hétérosides)** : Composés où un sucre (glycone) est lié à une molécule non-sucrée (aglycone). L'aglycone peut être un terpène, un phénol, etc. Exemples : glycosides cardiaques (digoxine), saponines (triterpènes glycosylés), glycosides cyanogéniques (libérant du cyanure), et glucosinolates. Ils sont impliqués dans la défense et le stockage.
- E. Polyacétates (ou polykétides)** : Synthétisés par la condensation d'unités acétyl-CoA. Cette classe comprend des antibiotiques (tétracyclines) et certaines toxines (aflatoxines).

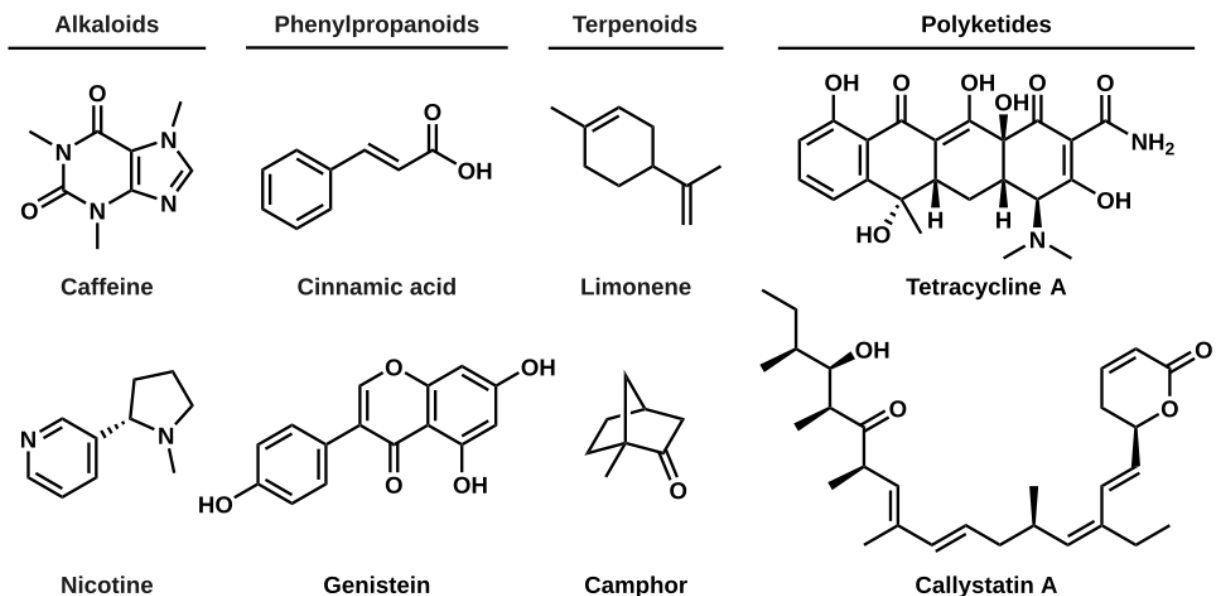


Figure n°3 : Classification des métabolites secondaires [53].

1.3. Biosynthèse des métabolites secondaires

La biosynthèse des métabolites secondaires est un processus complexe dérivant des voies métaboliques primaires. Les principales voies de biosynthèse sont [49, 50, 52] :

- **La voie de l'acétate (ou voie polykétide)** : Elle conduit à la formation des polykétides, des acides gras et de certains phénols. Elle implique la condensation répétée d'unités acétyl-CoA.
- **La voie du shikimate** : Présente chez les plantes et certains micro-organismes, cette voie est cruciale pour la synthèse des **composés phénoliques** (flavonoïdes, tanins, lignanes) et de certains alcaloïdes, en produisant des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) comme précurseurs.
- **Les voies du mévalonate (MVA) et du méthylérythritol phosphate (MEP/DOXP)** : Ces deux voies sont les précurseurs des terpénoïdes (ou isoprénoïdes).
 - La **voie du mévalonate (MVA)**, localisée dans le cytosol et les mitochondries, est prédominante chez les eucaryotes.
 - La **voie du méthylérythritol phosphate (MEP ou DOXP)**, située dans les plastides des plantes et chez certaines bactéries, utilise le pyruvate et le glycéraldéhyde-3-phosphate.
 - Ces voies génèrent des unités **isoprènes** à 5 carbones (isopentényl pyrophosphate, IPP, et diméthylallyl pyrophosphate, DMAPP) qui sont les blocs de construction des terpènes (mono-, sesqui-, di-, tri- et polyterpènes).
- **La voie des alcaloïdes** : Les alcaloïdes, composés azotés, sont souvent dérivés d'acides aminés (ex: tryptophane, tyrosine, lysine, ornithine) via des réactions complexes de décarboxylation, d'amination, et de méthylation.

2. Action des métabolites sur les radicaux libres

Les métabolites secondaires sont de puissants acteurs dans la lutte contre les radicaux libres, des molécules instables et très réactives qui peuvent endommager les cellules, les protéines et l'ADN. Cette capacité à neutraliser les radicaux libres est appelée **effet antioxydant** et est cruciale pour la santé des organismes vivants, y compris les plantes et les humains.

2.1. Radical libre et stress oxydatif

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules possédant un électron non apparié sur leur couche externe, ce qui les rend extrêmement instables et désireux de réagir avec d'autres molécules pour retrouver une configuration stable. Dans les systèmes biologiques, les radicaux libres les plus connus sont les espèces réactives de l'oxygène (ERO), comme les ions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) [54].

Ces radicaux sont produits naturellement par le métabolisme cellulaire (respiration, etc.) mais aussi en réponse à des facteurs externes comme la pollution, les rayonnements UV, le stress, l'inflammation ou une alimentation déséquilibrée. Lorsque leur production dépasse les capacités de défense antioxydante de l'organisme, on parle de stress oxydatif. Ce stress est impliqué dans le vieillissement, les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neurodégénératives et de nombreuses autres pathologies [54, 55].

2.2. Mécanismes d'action antioxydant des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires agissent comme des antioxydants via plusieurs mécanismes complémentaires :

A. Neutralisation directe des radicaux libres (scavenging) : C'est le mécanisme le plus courant. Les métabolites secondaires riches en groupes hydroxyle (-OH), comme les composés phénoliques (flavonoïdes, tanins, acides phénoliques), peuvent donner un électron ou un atome d'hydrogène aux radicaux libres, les rendant ainsi stables et non réactifs [54, 56]. Le métabolite secondaire lui-même devient un radical moins réactif ou est régénéré par d'autres systèmes [56].

B. Chélation des ions métalliques : Certains métabolites secondaires peuvent former des complexes avec les ions de métaux de transition (comme le fer et le cuivre). Ces ions peuvent catalyser la formation de radicaux libres très réactifs (réaction de Fenton) [54]. En les chélatant, les antioxydants empêchent cette catalyse et réduisent la production de radicaux libres [56].

C. Inhibition des enzymes pro-oxydantes : Certains métabolites secondaires peuvent inhiber l'activité d'enzymes qui génèrent des radicaux libres, telles que la xanthine oxydase ou certaines oxydases impliquées dans l'inflammation [54, 56].

D. Activation des enzymes antioxydantes endogènes : Certains métabolites secondaires peuvent stimuler la production ou l'activité des enzymes antioxydantes naturellement présentes dans l'organisme (comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) ou la glutathion peroxydase (GPx)). Ces enzymes constituent la première ligne de défense cellulaire contre le stress oxydatif [54, 56, 57].

3. Méthodes d'extraction et d'analyse des composés actifs

L'étude des composés actifs des plantes, comme le thym, repose sur des techniques d'extraction et d'analyse spécifiques.

Les **méthodes d'extraction** visent à isoler les molécules d'intérêt de la matrice végétale. Les approches **conventionnelles** incluent la **macération**, la **percolation**, la **distillation à la vapeur d'eau** (pour les huiles essentielles) et l'extraction par **Soxhlet**. Ces techniques sont fiables mais peuvent être longues et consommatrices en solvants [58]. Les **méthodes modernes** telles que l'extraction assistée par **micro-ondes (MAE)**, par **ultrasons (UAE)**, par **fluides supercritiques (SFE)** ou par **liquide sous pression (PLE)**, offrent des avantages significatifs en termes de rapidité, d'efficacité et de réduction des solvants [58, 59].

Après l'extraction, les **méthodes d'analyse** permettent de séparer, identifier et quantifier ces composés. Les techniques **chromatographiques** comme la **Chromatographie sur Couche Mince (CCM)**, la **Chromatographie en Phase Liquide Haute Performance (HPLC)** pour les composés non volatils, et la **Chromatographie en Phase Gazeuse (GC)** pour les composés volatils (ex: huiles essentielles du thym), sont fondamentales pour la **séparation** [60, 61]. Des techniques **couplées** telles que **GC-MS** et **HPLC-MS** combinent la séparation avec la spectrométrie de masse pour une identification structurale et une quantification précises [61]. Enfin, la **Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)** et la **spectroscopie UV-Visible** sont utilisées pour l'élucidation structurale et la quantification. Des **tests biologiques** (ex: tests antioxydants comme DPPH) sont également réalisés pour évaluer l'activité fonctionnelle des extraits ou des molécules purifiées [62].

PARTIE EXPERIMENTALE

BUT ET OBJECTIFS

Le but de cette présente recherche est d'étudier les composés responsables de l'activité antioxydante de *Thymus munbyanus*. Pour cette raison nous allons effectuer une étude comparative sur l'activité antioxydante et la teneur en quelques composés phénoliques entre l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de thym (**Figure n° 4**).

Enfin, une étude des corrélations a été effectuée afin de mettre en évidence le lien entre les différents paramètres évalués au cours de notre travail expérimental, tout en les comparants chez les deux extraits étudiés (l'extrait aqueux et l'huile essentielle de thym).

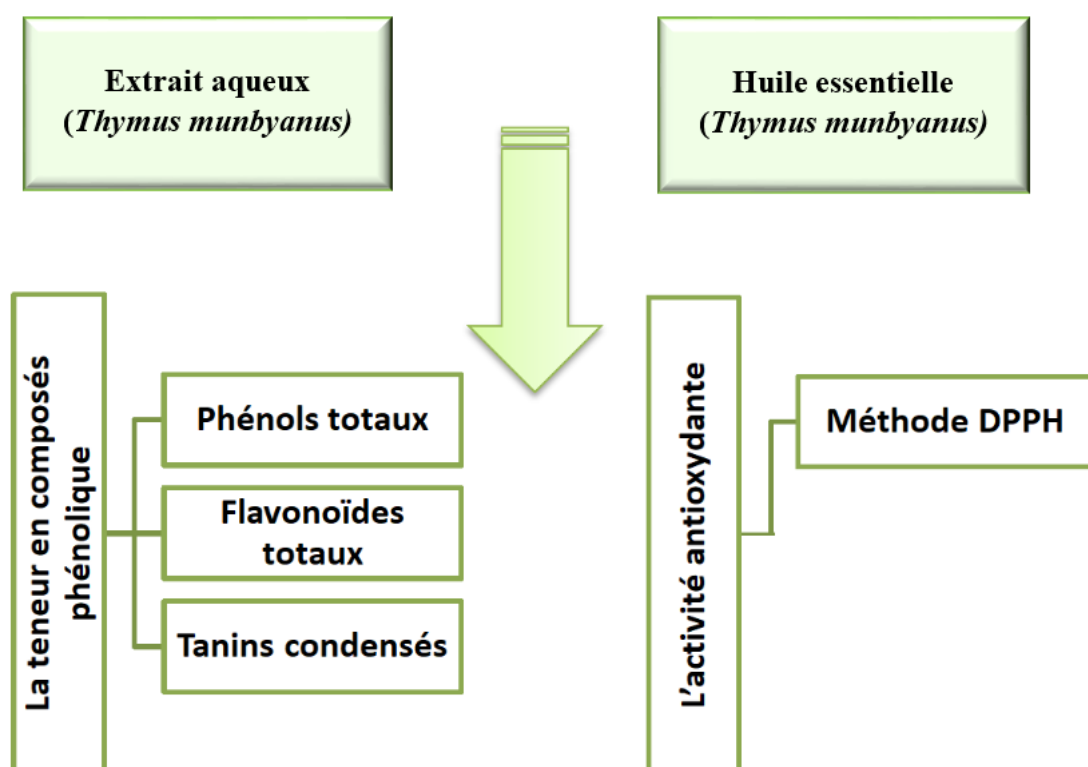


Figure n°4 : Schéma du protocole expérimental.

CHAPITRE I. MATERIEL & METHODES

1. Etude de la composition chimique et des propriétés anti-oxydantes de la plante choisie

1.1. Extraction du matériel végétal

1.1.1. L'extrait aqueux

Il a été préparé quotidiennement à partir des feuilles de thym séché (3g dans 30mL) et soumis à une décoction, par ébullition pendant 15-20 min. La phase aqueuse est filtrée et l'extrait est ensuite conservés à 4°C. Le rendement d'extraction de l'extrait aqueux de thym se trouve dans l'**annexe 1**.

1.1.2. L'huile essentielle

Elle a été extraite par hydrodistillation. Le processus implique de chauffer de l'eau pour créer de la vapeur, qui traverse ensuite le matériel végétal (dans ce cas, le thym). La chaleur libère les huiles essentielles, qui se condensent avec la vapeur d'eau et sont collectées sous forme liquide [63].

Les étapes de l'hydrodistillation sont d'abord, la préparation du matériel végétal à savoir 35g de thym séché ; suivie par le montage du distillateur (remplissage du ballon avec 350mL d'eau distillée puis placement du thym à l'intérieur).

Ensuite le chauffage où la vapeur d'eau passera à travers le thym, libérant les huiles essentielles. La vapeur d'eau et les huiles essentielles passent à travers le condenseur, où elles se transforment en liquide.

Enfin, le distillat est recueilli dans une bouteille en verre ; la phase huileuse (huiles essentielles) flottera au-dessus de l'eau. L'huile essentielle est ensuite conservée dans une bouteille en verre opaque, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de thym se trouve dans l'**annexe 2**.

1.2. Dosages colorimétriques des composés phénoliques

1.2.1. Dosage des phénols totaux

➤ Principe de la Méthode

En présence d'un environnement basique (autour de pH 10), les phénols perdent un proton, formant ainsi un anion phénolate. Cet anion est ensuite capable de réduire le RFC (qui

contient du tungstène et du molybdène). Cette réduction aboutit à la formation d'un complexe bleu spécifique, probablement de formule $(\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40})^{-4}$.

Pour quantifier les résultats, l'**acide gallique** est utilisé comme standard. Une courbe d'étalonnage est construite à partir de concentrations connues d'acide gallique, ce qui permet ensuite de déterminer la teneur en phénols totaux dans les échantillons inconnus. Les résultats sont exprimés en "équivalents acide gallique".

➤ **Protocole Opérateur**

D'après la méthode décrite par WOLFE et al (2003) [64], pour réaliser le dosage des phénols totaux, on commence par prélever **0,5 mL d'une solution mère** (à 1 mg/mL, préparée dans un mélange méthanol/eau 50:50). Cette prise d'essai est ensuite mélangée avec **5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu** et **4 mL de carbonate de sodium (1M)**. Après avoir agité le mélange, on le laisse incuber pendant **15 minutes à l'obscurité et à température ambiante**.

Enfin, l'absorbance de la solution est mesurée à **765 nm**. Cette même procédure est appliquée pour construire la gamme étalon avec différentes concentrations d'acide gallique (0, 50, 100, 150, 200, 250 et 300 $\mu\text{g/mL}$) (**Tableau II**), ce qui permet de quantifier les teneurs en phénols totaux des extraits en mg d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait) à l'aide de la courbe d'étalonnage qui doit présenter un coefficient de régression proche de 1 ($R^2 = 0.9937$) (**Annexe 3**).

Tableau II : Les étapes de préparation de la gamme étalon de l'acide gallique.

AG ($\mu\text{g/ml}$)	0	50	100	150	200	250	300
$V_i(\mu\text{l})$	0	25	50	75	100	125	150
$V_{\text{MeOH}}(\mu\text{l})$	500	475	450	425	400	375	350
FC (ml)	5						
Na_2CO_3 (ml)	4						

1.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

➤ **Principe de la Méthode**

Le dosage des flavonoïdes totaux repose sur une méthode colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Ce réactif est connu pour former des complexes acides stables avec le groupe carbonyle ($\text{C}=\text{O}$) en position C-4 et/ou les groupes hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. De plus, AlCl_3 peut également former des complexes acides labiles

avec les groupes orthodihydroxyles qui pourraient être présents sur les noyaux A et/ou B des flavonoïdes.

La **quercétine**, un flavonoïde de la classe des flavonols, est le composé standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage dans cette méthode.

➤ **Protocole Opératoire**

La détermination des flavonoïdes totaux est effectuée selon une méthode adaptée de Zhisen et al. (1999) [65]; 0,5 mL d'une solution d'extrait (aqueux/huileux) de concentration 1 mg/mL, on ajoute successivement : 1,5 mL de méthanol ; 0,1 mL de AlCl₃·6H₂O à 10% ; 0,1 mL d'acétate de sodium (1M) ; 2,8 mL d'eau ultra-pure.

Le mélange est ensuite agité vigoureusement et laissé à reposer pendant **30 minutes à l'obscurité**. À la fin de la réaction, l'absorbance de la solution est mesurée à **430 nm**.

Une **courbe d'étalonnage de la quercétine** est établie en suivant la même procédure et dans les mêmes conditions, en utilisant différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80, 100 et 120 µg/mL) (**Tableau III**). Les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits sont exprimées en **mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait)**. Ces valeurs sont directement déterminées à partir de la courbe d'étalonnage, qui doit présenter un coefficient de régression proche de 1 ($R^2 = 0.9962$) (**Annexe 4**).

Tableau III : Les étapes de préparation de la gamme étalon de la quercétine.

Quercétine(µg/ml)	0	20	40	80	100	120
V _i (µl)	0	10	20	40	50	60
V _{MeOH} (µl)	500	490	480	460	450	440
Méthanol (ml)	1,5					
AlCl ₃ (ml)	0,1					
CH ₃ COONa (ml)	0,1					
Eau ultra pure (ml)	2,8					

1.2.3. Dosage des tanins condensés

➤ **Principe de la Méthode**

Le dosage des tanins condensés repose sur la **méthode à la vanilline en milieu acide**. Cette technique est basée sur la capacité de la **vanilline** à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide. Cette réaction produit un **complexe coloré rouge** dont l'intensité

est directement proportionnelle à la quantité de flavanols présents dans le milieu. Ce complexe présente un maximum d'absorption à une longueur d'onde de **500 nm**.

➤ **Protocole Opératoire**

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode à la vanilline décrite par Julkunen-Tiitto R. (1985) [66]. Deux séries de tubes à essai sont préparées. Dans chaque tube de chaque série, on introduit **1 mL de chaque extrait**.

- **Première série:** 5 mL du **réactif d'analyse (vanilline 1% + HCl 8%)** sont ajoutés à intervalles d'une minute.
- **Deuxième série (blanc):** 5 mL d'une **solution de HCl 4%** sont ajoutés à intervalles d'une minute.

Tous les tubes sont ensuite placés dans un **bain-marie à 30°C pendant 20 minutes**. À la fin de la réaction, la lecture des absorbances est effectuée à **500 nm**, en respectant un intervalle d'une minute entre chaque lecture.

Une **courbe d'étalonnage de la catéchine** est réalisée en suivant la même procédure que pour la première série, en utilisant différentes concentrations allant de 0 à 0,3 mg/mL (**Tableau IV**).

L'absorbance des tubes de la deuxième série (les blancs) est soustraite de celle des tubes correspondants de la première série. Cette étape est cruciale, surtout pour les tissus riches en pigments, afin d'éliminer toute interférence. Les valeurs d'absorbance ainsi corrigées sont utilisées pour déterminer les concentrations en tanins condensés, exprimées en **mg d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g extrait)**, à partir de la courbe d'étalonnage (qui doit présenter un coefficient de régression proche de 1, $R^2 = 0.9918$) (**Annexe 5**).

Tableau IV : Les étapes de préparation de la gamme étalon de la quercétine.

Catéchine(mg/ml)	0	0,06	0,12	0,18	0,24	0,30
V_i (µl)	0	200	400	600	800	1000
V_{MeOH} (µl)	1000	800	600	400	200	0
Réactif de l'analyse (ml)	5					

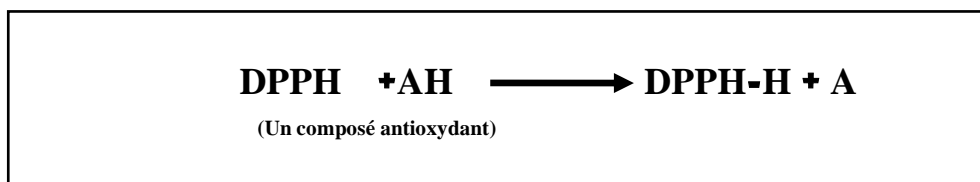
1.3. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro* : Méthode DPPH

➤ Principe de la Méthode

L'activité antiradicalaire est mesurée par la dégradation du 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH), un radical synthétique donnant une coloration violette en solution [67].

En contact d'antioxydants, la couche électronique de ce radical est saturée, (il s'agit d'une réduction, qui se traduit par un transfert d'un atome d'hydrogène sur l'atome d'azote du radical DPPH) ce qui a pour résultat sa décoloration. Cette propriété permet de suivre la capacité de l'extrait de la plante à piéger ce radical.

Expérimentalement, la réaction consiste à mettre la solution de DPPH en présence de différentes concentrations d'un extrait susceptible d'avoir un effet antiradicalaire et de mesurer la capacité de ce dernier à réduire le radical DPPH en DPPH-H selon la réaction suivante :



➤ Protocole Opérateur

Ce dosage a été déterminé suivant la méthode de Blois [68] avec quelques modifications. Diverses dilutions de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de thym ont été réalisées dans de l'éthanol (**Tableau V**). 2 ml de chaque dilution sont mélangés avec 2 ml de la solution de DPPH. Après une période d'incubation de 30 min à 25°C dans l'obscurité, l'absorbance au spectrophotomètre à 517 nm a été enregistrée.

L'expérience a été également effectuée en appliquant la même procédure à une solution sans la substance d'essai considérée comme le totale.

L'estimation de l'activité antiradicalaire de chaque solution est exprimée par la valeur du pourcentage d'inhibition (PI %) conformément à l'équation suivante :

$$PI \% = \frac{DO_{100\%} - DO_{Essai}}{DO_{100\%}} \times 100$$

Avec :

DO_{100%} : absorbance du totale.

DO_{Essai} : absorbance de la solution en présence d'extraits.

La courbe donnant la variation du (PI%) en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux et de l'huile de lentisque (1 ; 0,2 ; 0,1 ; 0,05 et 0,03 mg/ml), permet de déterminer l'activité antiradicalaire exprimées en tant que CI₅₀, définie comme la concentration de la substance d'essai requise pour provoquer 50% d'inhibition de radicaux libres de DPPH.

Tableau V : Les étapes de préparation de la gamme étalon du DPPH

Concentration EQ/H (mg/ml)	1	0,2	0,1	0,05	0,03	Totale
V _i (μl)	2000	400	200	100	60	/
V _{Ethanol} (μl)	0	1600	1800	1900	1940	2000
V _{DPPH} (ml)	2 (pour chaque tube)					

2. Traitement statistique

Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type (moy±SEM). Les moyennes sont comparées par un test t de Student. L'analyse statistique des données a été réalisée par EXCEL 2016. Les différences sont considérées comme :

* : Significative lorsque $p \leq 0,05$.

** : Hautement significative lorsque $p \leq 0,01$.

*** : Très hautement significative lorsque $p \leq 0,001$.

p : Seuil de signification.

CHAPITRE II. RESULTATS & DISCUSSION

1. La composition chimique & les propriétés antioxydantes des deux extraits de *Thymus munbyanus*

1.1. Dosage des composés phénoliques

Les dosages des phénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins condensés précédemment effectués ; nous ont permis de comparer entre la composition de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de thym.

a. Evaluation de la teneur en phénols totaux

Les résultats montrent un taux en phénols totaux plus élevé dans l'huile essentielle (de 610,67%) par rapport à son extrait aqueux. La différence étant très hautement significative (Figure n°5).

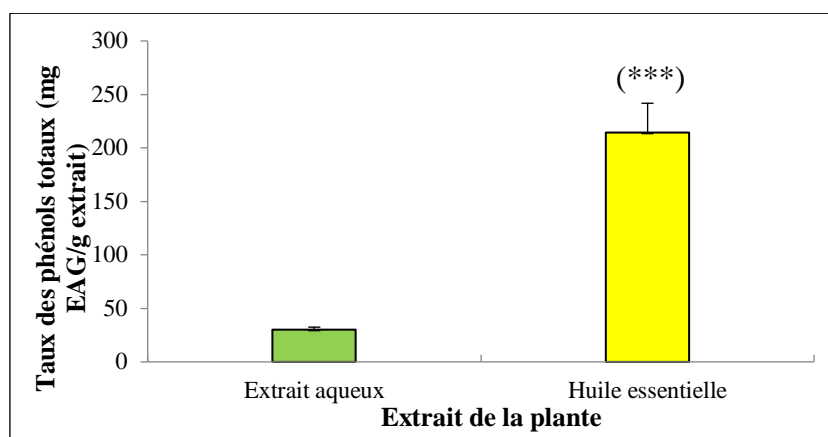


Figure n°5 : Concentration des phénols totaux de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus*.

Les valeurs données représentent la moyenne de quatre mesures \pm SEM

Les différences significatives: $p^{***} \leq 0,001$.

EAG équivalents acide gallique

b. Evaluation de la teneur en flavonoïdes totaux

Les résultats montrent un taux en flavonoïdes totaux plus élevé dans l'huile essentielle (de 241,80 %) par rapport à son extrait aqueux. La différence étant très hautement significative (Figure n°6).

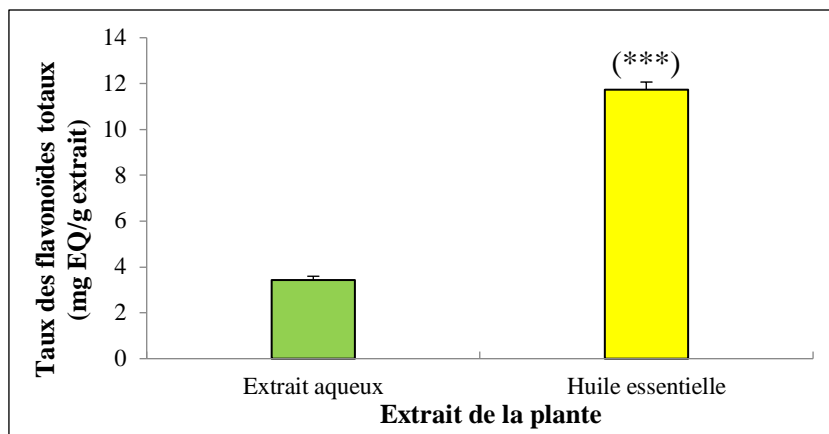


Figure n°6 : Concentration des flavonoïdes totaux de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus*.

Les valeurs données représentent la moyenne de quatre mesures \pm SEM

Les différences significatives: $p^{***} \leq 0,001$.

EQ équivalents quercétine

c. Evaluation de la teneur en tanins condensés

Les résultats montrent un taux en tanins condensés plus élevé dans l'extrait aqueux (de 9,09%) par rapport à son huile essentielle. La différence n'atteint pas le seuil de la signification (**Figure n°7**).

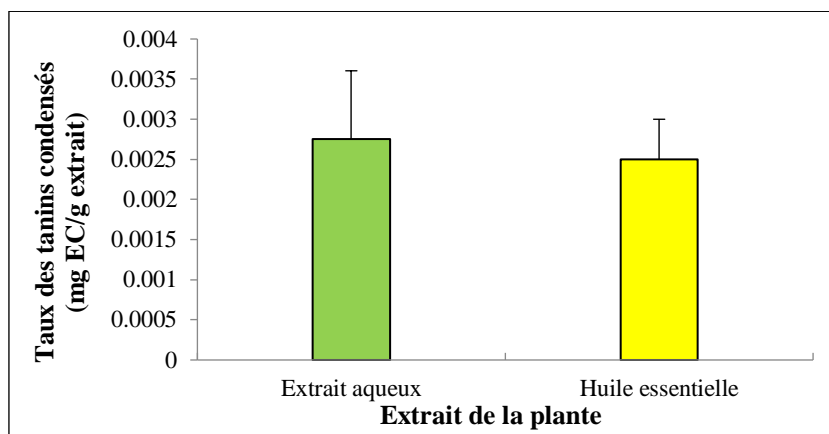


Figure n°7 : Concentration des tanins condensés de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus*.

Les valeurs données représentent la moyenne de quatre mesures \pm SEM

EC équivalents catéchine

1.2. Activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des différents extraits de la plante a été réalisée par la méthode chimique du piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante sur le radical DPPH montrent que l'extrait aqueux de thym possède la plus forte activité antioxydante, avec une valeur de la CI_{50} plus faible que celle de son huile essentielle (avec une baisse de cette valeur de 49,66%) (**Figure n°8**).

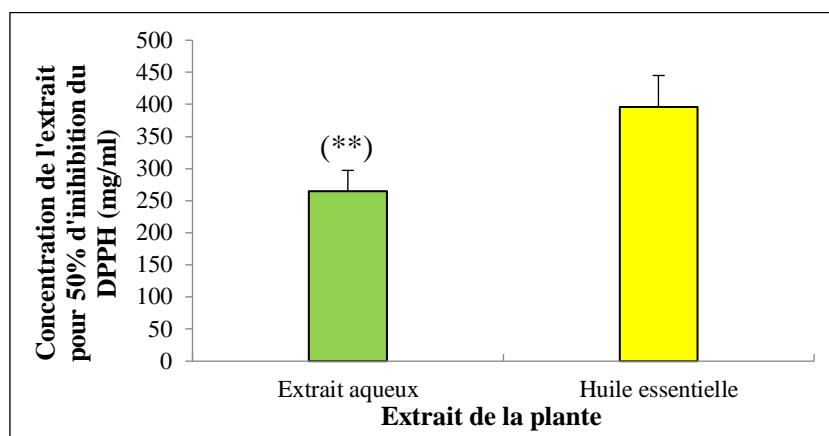


Figure n°8 : Concentration de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pour 50% d'inhibition de radicaux libres de DPPH.

Les valeurs données représentent la moyenne de trois mesures \pm SEM

Les différences significatives: $p^{**} \leq 0,01$.

1.3. Etude des corrélations

Dans le but de confirmer l'efficacité des méthodes de dosage et des activités mesurées, le **tableau VI** montre les valeurs de corrélation entre la méthode de mesure de l'activité antioxydante et les concentrations en phénols totaux des deux extraits. Tous les phénols dosés montrent une corrélation supérieure au test DPPH. Les plus fortes corrélations sont enregistrées entre les tests de mesure de l'activité antioxydante et la quantité en flavonoïdes totaux et tanins condensés ; suivis par les phénols totaux.

Tableau VI : Corrélations entre la quantité en phénols des extraits et le test DPPH.

		Teneurs en phénols		
		Phénols totaux	Flavonoïdes totaux	Tanins condensés
Activité antioxydante <i>in vitro</i>	DPPH	0,83	0,91	0,91

2. Discussion

L'étude des composés phénoliques et de l'activité antioxydante de *Thymus munbyanus* a révélé des différences significatives entre l'extrait aqueux et l'huile essentielle, soulignant les spécificités de chaque type d'extrait et leur potentiel thérapeutique.

Nos résultats démontrent que l'huile essentielle de *Thymus munbyanus* possède une teneur en phénols totaux et en flavonoïdes totaux significativement plus élevée que son extrait aqueux (Figures n° 5 et 6). Cette observation est cruciale, car les composés phénoliques, et notamment les flavonoïdes, sont largement reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et même antimicrobiennes [69, 70]. La concentration beaucoup plus élevée de ces métabolites secondaires dans l'huile essentielle, un extrait majoritairement apolaire, suggère que les méthodes d'extraction par hydrodistillation sont particulièrement efficaces pour la récupération de ces molécules spécifiques dans le thym. Les huiles essentielles sont souvent riches en composés phénoliques volatils tels que le thymol et le carvacrol, qui sont des constituants majeurs du genre *Thymus* et qui contribuent fortement à l'activité biologique [71]. Il est plausible que ces composés soient mieux extraits par hydrodistillation que par décoction aqueuse.

Inversement, l'extrait aqueux présente une légère prédominance en tanins condensés, bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative (Figure n° 7). Les tanins sont des polymères de flavonoïdes qui sont généralement plus solubles dans l'eau que les flavonoïdes monomériques ou les phénols simples. Leur présence plus prononcée dans l'extrait aqueux est donc cohérente avec leurs caractéristiques de solubilité. Les tanins sont également connus pour leurs propriétés antioxydantes, astringentes et pour leur capacité à former des complexes avec les protéines [72]. La différence de distribution des composés phénoliques entre les deux types d'extraits met en évidence que le choix de la méthode d'extraction est déterminant pour la composition chimique finale de l'extrait et, par conséquent, pour ses activités biologiques potentielles.

Contrairement à la teneur en phénols et flavonoïdes, nos résultats montrent que l'extrait aqueux de *Thymus munbyanus* possède une activité antioxydante plus forte, caractérisée par une valeur de CI_{50} plus faible (Figure n° 8). Cela signifie que l'extrait aqueux est plus efficace pour piéger les radicaux libres DPPH à une concentration plus faible. Ce résultat, bien qu'apparemment contre-intuitif au regard de la plus faible concentration en phénols et flavonoïdes dans l'extrait aqueux, peut s'expliquer par plusieurs facteurs.

Premièrement, l'activité antioxydante n'est pas uniquement liée à la quantité totale de phénols ou de flavonoïdes, mais aussi à la **nature spécifique** et à la **synergie des composés présents** [73, 74]. Il est possible que l'extrait aqueux contienne d'autres classes de composés antioxydants, ou que la combinaison particulière de phénols, de flavonoïdes et de tanins condensés (même si en quantité moindre pour les deux premiers) dans l'extrait aqueux exerce un effet synergique plus puissant sur le radical DPPH que la composition de l'huile essentielle. Des études ont montré que certains composés hydrosolubles non phénoliques, tels que les polysaccharides ou certaines vitamines, peuvent également contribuer de manière significative à l'activité antioxydante des extraits végétaux [75].

Deuxièmement, la **polarité des molécules** joue un rôle crucial dans leur capacité à interagir avec le radical DPPH, qui est dissous dans un solvant organique (éthanol dans notre cas) [76]. Bien que l'extrait aqueux soit par définition polaire, il peut contenir des molécules avec une polarité intermédiaire ou élevée qui interagissent efficacement avec le DPPH en solution éthanolique. Les huiles essentielles, étant majoritairement lipophiles, peuvent présenter des limitations d'accessibilité et de vitesse de réaction avec le radical DPPH en milieu éthanolique, même si elles contiennent des phénols puissants. La cinétique de la réaction DPPH peut varier considérablement en fonction de la structure de l'antioxydant et de la polarité du solvant [77].

L'étude des corrélations a mis en évidence une **forte corrélation positive** entre les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes totaux, tanins condensés et l'activité antioxydante mesurée par le test DPPH (Tableau VI). Cette corrélation robuste (coefficient supérieur à 0.83 pour tous les composés phénoliques mesurés) confirme que les composés phénoliques sont bien les principaux contributeurs à l'activité antioxydante des deux extraits de *Thymus munbyanus* [69, 75]. Les flavonoïdes totaux et les tanins condensés montrent les corrélations les plus fortes (0.91), suggérant qu'ils jouent un rôle particulièrement important dans le piégeage des radicaux libres [70].

Bien que l'huile essentielle ait montré des teneurs plus élevées en phénols et flavonoïdes, et une corrélation forte entre ces composés et l'activité antioxydante, la performance supérieure de l'extrait aqueux en termes de CI_{50} souligne la complexité des interactions phytochimiques. Cela renforce l'idée qu'une simple quantification des groupes de composés ne suffit pas toujours à prédire l'activité biologique globale. La structure spécifique, la réactivité et la synergie entre les différents antioxydants présents dans chaque extrait sont des facteurs déterminants qui

peuvent expliquer ces nuances, comme le suggèrent plusieurs revues sur la relation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante [73, 74, 76].

CONCLUSION

Cette étude comparative des extraits aqueux et des huiles essentielles de *Thymus munbyanus* a permis de mieux comprendre leurs profils phytochimiques distincts et leurs capacités antioxydantes. Nous avons constaté que l'huile essentielle est significativement plus riche en phénols totaux et en flavonoïdes totaux, des composés réputés pour leurs diverses bioactivités. Cependant, de manière surprenante, l'extrait aqueux a démontré une activité antioxydante *in vitro* supérieure, se montrant plus efficace pour neutraliser le radical DPPH.

Ces résultats suggèrent que l'activité antioxydante n'est pas uniquement corrélée à la quantité brute de certains composés, mais également à la synergie complexe entre les différentes molécules présentes et à leur polarité spécifique. L'extrait aqueux pourrait contenir d'autres antioxydants hydrosolubles ou des combinaisons de molécules qui optimisent leur effet de piégeage des radicaux libres.

En conclusion, les deux types d'extraits de *Thymus munbyanus* possèdent des potentiels bioactifs distincts. L'huile essentielle, avec sa richesse en phénols et flavonoïdes, pourrait être particulièrement intéressante pour ses applications en tant qu'agent antimicrobien ou anti-inflammatoire, tandis que l'extrait aqueux, grâce à son excellente capacité antioxydante, pourrait être privilégié dans le développement de produits alimentaires fonctionnels, de compléments alimentaires ou de cosmétiques visant à combattre le stress oxydatif. Ces découvertes ouvrent la voie à une valorisation optimisée de cette plante médicinale, en fonction des objectifs thérapeutiques ou industriels spécifiques.

Pour aller plus loin dans la compréhension et la valorisation de *Thymus munbyanus*, plusieurs pistes de recherche future pourraient être explorées :

- **Caractérisation phytochimique approfondie** : Des analyses par des techniques plus avancées (ex: HPLC-MS, GC-MS) permettraient d'identifier et de quantifier les composés phénoliques et non phénoliques spécifiques présents dans chaque extrait. Cela aiderait à élucider quels sont les molécules exactes responsables des activités observées et à comprendre les différences de polarité et de synergie.
- **Évaluation de l'activité antioxydante par d'autres méthodes** : L'utilisation de tests antioxydants complémentaires (ex: FRAP, ABTS, ORAC) fournirait une vision plus complète du mécanisme d'action antioxydant de chaque extrait, compte tenu des différentes chimies impliquées dans ces essais.

- **Études de biodisponibilité et d'activité *in vivo*** : Il serait crucial de valider les propriétés antioxydantes observées *in vitro* par des études *in vivo*. Cela permettrait de déterminer si les composés actifs sont absorbés et atteignent des concentrations suffisantes dans l'organisme pour exercer leurs effets bénéfiques. Des études sur des modèles animaux pourraient être envisagés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2018). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Elsevier Health Sciences.
- [2] Griggs, J. (2017). *Herbal Medicine: The History of Herbalism*. The Rosen Publishing Group, Inc.
- [3] Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 40 Years and Future Opportunities. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770-803.
- [4] Atanasov, A. G., Zotchev, A. S., Dirsch, M. V., & Supuran, J. T. (2021). Natural products in drug discovery: past, present, and future. *Angewandte Chemie International Edition*, 60(22), 12738-12752.
- [5] Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2013). Antioxidant capacity of foods and dietary supplements. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 16(6), 724-731.
- [6] Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- [7] Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84.
- [8] Adnan, M., Ullah, I., Khan, S. U., Khan, S. A., Ali, T., Bibi, R., ... & Ahmad, A. (2020). Plant-Derived Antimicrobial Compounds: A Review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(11), 4753-4771.
- [9] Xu, S., Li, Z., Long, S., & Li, Q. (2019). Anti-inflammatory natural products: A rich source for novel therapeutic agents. *Molecules*, 24(4), 672.
- [10] Chaudhary, P., Maity, M., & Chaudhuri, S. (2021). Anti-inflammatory potential of plant-derived compounds: A review. *Current Pharmaceutical Design*, 27(26), 2977-2993.
- [11] Salehi, B., Venditti, A., et al. (2019). Thymus genus: From traditional uses to promising pharmacological activities. *Foods*, 8(11), 543.
- [12] Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Lavoisier.
- [13] Teixeira, M. C., & Costa, G. (2018). *Pharmacognosy and Phytochemistry: From Plants to Phytopharmaceuticals*. IntechOpen.
- [14] Rates, S. M. (2001). Plants as sources of drugs. *Economic Botany*, 55(1), 1-6.
- [15] Bryan, C. P. (1930). *Ancient Egyptian Medicine: The Papyrus Ebers*. Ares Publishers.
- [16] Manniche, L. (1989). *An Ancient Egyptian Herbal*. University of Texas Press.

- [17] Dioscorides, P. (2000). *De Materia Medica*. (Translated by L. Y. Beck). Georg Olms Verlag.
- [18] Scarborough, J. (1998). *Medical and Biological Sciences*. In *The Oxford Illustrated History of Ancient Greece and the Hellenistic World*. Oxford University Press.
- [19] Riddle, J. M. (1992). *Dioscorides on Pharmacy and Medicine*. University of Texas Press.
- [20] Ernst, E. (2010). Traditional Chinese medicine: an overview. *Current Oncology*, 17(5), 11-13.
- [21] Cheung, S. T. (2011). *Chinese Herbal Medicine: Materia Medica*. Singing Dragon.
- [22] El-Said, F., Khalil, S., & Shawky, S. (2019). The Contribution of Islamic Scholars to Botanical and Pharmacognostic Sciences. *Journal of Islamic Medical Association of North America (JIMANA)*, 51(2), 79-84.
- [23] Avicenna. (2006). *The Canon of Medicine* (Translated by O. Cameron Gruner). Kazi Publications.
- [24] World Health Organization (WHO). (2013). *WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023*. World Health Organization.
- [25] Tilburt, J. C., & Kaptchuk, T. J. (2008). Herbal medicine research and global health: an ethical analysis. *Bulletin of the World Health Organization*, 86(8), 594-599.
- [26] Medical News Today. (2024). *Thyme: Benefits, history, and forms*. Consulté sur <https://www.medicalnewstoday.com/articles/266016>
- [27] Journal of Applied Biology and Biotechnology. (2017). *Medicinal and Functional Values of Thyme (Thymus vulgaris L.) Herb*. Consulté sur https://jabonline.in/abstract.php?article_id=188&sts=2
- [28] Benazzeddine, M. (2010). *Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de quelques plantes médicinales de la région de Tlemcen (Thymus vulgaris L., Rosmarinus officinalis L., Origanum vulgare L.)*. [Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen].
- [29] Kabouche, Z. (2005). *Contribution à l'étude phytochimique et biologique de quelques plantes de la flore algérienne*. [Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine].
- [30] Remal, Z., & Khachouche, M. (2017). *Étude phytochimique et activité biologique de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle de Thymus vulgaris L. de la région de Souk Ahras*. [Mémoire de Master, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi].
- [31] Kholkhal, M. (2014). *Contribution à l'étude des potentialités mellifères et pollinifères des plantes aromatiques et médicinales de la région de Djelfa*. [Mémoire de Master, Université Ziane Achour Djelfa].

- [32] Lavergne, D. (2012). *Le Thym: culture, usages et bienfaits*. Éditions Ulmer.
- [33] *Thymus munbyanus*. Endémique du Maroc et d'Algérie, 2024 ; <https://www.teline.fr/fr/photos/lamiaceae/thymus-munbyanus>
- [34] GBIF. *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. Disponible sur : <https://www.gbif.org/species/7306942>
- [35] Plants of the World Online (Kew Science). *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. Disponible sur : <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:461445-1>
- [36] Euro+Med Plantbase. *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. Disponible sur : <http://ww2.bgbm.org/euroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameId=23962&PTRefFk=8000000>
- [37] Université de Biskra. *Composition chimique et activité antioxydante de Thymus munbyanus subsp. Ciliatus (Desf)*. Disponible sur : http://archives.univ-biskra.dz/bitstream/123456789/27578/1/Djenaihi_Wissem_Bensalem_Djohaina.pdf
- [38] Benayache, S. (2013). *Etude de l'huile essentielle de quelques espèces de Thymus de la région de Tlemcen*. [Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen].
- [39] Stahl-Biskup, E., & Saez, F. (Eds.). (2002). *Thyme: The Genus Thymus*. Taylor & Francis.
- [40] Université des Frères Mentouri Constantine 1. *Étude phytochimique et activités biologiques de l'huile essentielle de Thymus algeriensis Boiss. et Reut. de la région de Constantine*. Consulté le 21 mai 2025. Disponible sur : <https://dspace.univ-constantine.dz/handle/123456789/10633>
- [41] Dialnet. *Flore endémique, rare et menacée de l'Atlas tellien occidental de Tiaret (Algérie)*. Consulté le 21 mai 2025. Disponible sur : <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6712865>
- [42] Herbmedit.org. *Une première investigation sur la flore horticole de la région de Annaba (Nord-Est algérien): Biodiversité et intérêt*. Consulté le 21 mai 2025. Disponible sur : https://www.herbmedit.org/flora/FL32_117-129.pdf
- [43] ResearchGate. *Pharmacological, biological and phytochemical aspects of Thymus munbyanus Boiss. & Reut.: A review*. Consulté le 21 mai 2025. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/359205574_Pharmacological_biological_and_phytochemical_aspects_of_Thymus_munbyanus_Boiss_Reut_A_review
- [44] *Pharmacological, biological and phytochemical aspects of Thymus munbyanus Boiss. & Reut.: A review*. (2022). *ResearchGate*. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/359205574_Pharmacological_biological_and_phytochemical_aspects_of_Thymus_munbyanus_Boiss_Reut_A_review

- [45] Total phytochemical analysis of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* from Algeria by HS-SPME-GC-MS, NMR and HPLC-MSn studies. (2020). *PubMed*. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32371324/>
- [46] Pharmacological, biological and phytochemical aspects of *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut.: A review | Plant Science Today. (2024). *Horizone Publishing*. Disponible sur: <https://horizonepublishing.com/journals/index.php/PST/article/view/1494>
- [47] Hypolipidemic Effect of *Thymus munbyanus* subsp. *ciliatus* Greuter & Burdet.: Guinea Pig as a Model for Tyloxapol-induced Hyperlipidemia. (2023). *Taylor & Francis Online*. Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/22311866.2022.2162580>
- [48] First Ethnobotanical Study Relating to Usage of Medicinal Plants in Province of Ain Defla Region, South-West of Algeria. (2023). *Indian Ecological Society*. Disponible sur: https://indianecologicalsociety.com/wp-content/themes/ecology/volume_pdfs/1656315583.pdf
- [49] Ramakrishna, A., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolite production in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(7), 803-811.
- [50] Phyto Science - Les Métabolites Secondaires. Consulté le 21 mai 2025. Disponible sur : <https://sites.google.com/site/phytoscience6/les-metabolites-secondaires>
- [51] Gershenzon, J. (1994). The Cost of Chemical Defense against Herbivory: A Biochemical Perspective. In: *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 25, 417-440.
- [52] Pichersky, E., & Gang, D. R. (2000). Biochemistry and molecular biology of secondary metabolites in plants: recent advances and future prospects. *Current Opinion in Plant Biology*, 3(3), 221-229.
- [53] Representative examples of each of the major classes of secondary metabolites, Wikimedia, 2014. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Secondary_metabolite_class_examples.svg
- [54] Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- [55] Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-96.
- [56] Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933-956.
- [57] Salehi, B., Venditti, A., et al. (2019). Thymus genus: From traditional uses to promising pharmacological activities. *Foods*, 8(11), 543. (Cette référence met en évidence l'activité antioxydante des composants du Thym).

- [58] Azmir, J., Zaidul, I. S. M., et al. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 506-516.
- [59] Chemat, F., Rombaut, N., et al. (2017). Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 8(2), 291-300.
- [60] Ncube, B., & Van Staden, J. (2015). Chapter 3 - Extraction Techniques for Natural Products. In: *Natural Product Research: Advances in Plant and Fungal Products*, 37-56. Elsevier.
- [61] Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2020). *Principles of Instrumental Analysis*. Cengage Learning.
- [62] Gulcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391.
- [63] Boukhatem, M. et al. (2020). Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de Thymus par hydrodistillation. Université Salah Boubnider - Constantine 3.
- [64] Wolfe, K., Wu, X. et Liu, RH. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *J Agric food chem*, 51, 609-614.
- [65] Zhishen, J., Mengcheng, T., et Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 64, 555- 559.
- [66] Julkenen –Tiito, R. (1985). Phenolics constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric food chem*, 33, 213-217.
- [67] Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
- [68] Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 26, 1199–1200
- [69] Dianita, R., & Anggraeni, D. (2023). A review of the antioxidant activity of phenolic compounds. *Natural Product Communications*, 18(4), 1-10.
- [70] Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750.
- [71] Ciani, M., Clemente, S. P., Arfelli, G., & Serio, F. (2021). The genus *Thymus*: A review of the chemical composition, biological activities and potential applications of its essential oils. *Foods*, 10(11), 2841.
- [72] Bendaoud, H., Aouadi, H., Akil, E. M., Lamine, N., & Badaoui, I. (2023). Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Acacia cyanophylla* Lindl. bark extracts. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 34, 100465.

- [73] Kusuma, M., Andarwulan, N., Puspitasari, N. L. P. D., & Adawiyah, D. R. (2022). The Relationship Between Phenolic Content and Antioxidant Activity of Edible Flowers: A Review. *Food Research*, 7(1), 1-13.
- [74] Guleria, S. (2017). Synergistic Antioxidant Activity of Natural Products. *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*, 2(16), 1086.
- [75] Pourmorad, M. M., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1142-1145.
- [76] Yeo, J., & Shahidi, F. (2019). Revisiting DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay as a useful tool in antioxidant evaluation: A new IC100 concept to address its limitations. *Journal of Food Bioactives*, 7.
- [77] Huang, D. J., Ou, B. X., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856.

ANNEXE

Annexe 1 : Calcul du rendement de l'extrait aqueux.

Le rendement d'extraction de l'extrait aqueux de thym est calculé selon la formule :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{La Masse de l'extrait (mg)}}{\text{La Masse initiale du thym utilisé (mg)}} \times 100$$

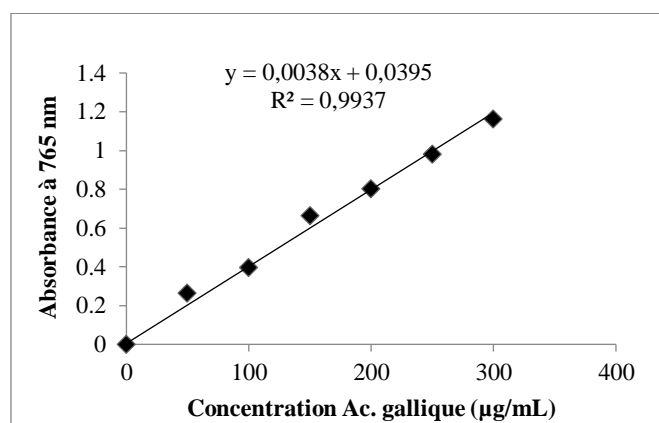
Nous avons utilisé du broyat de thym en macération avec l'eau bouillante pendant 20 min. Le rendement de l'extraction est de : **362 ± 18 %**. (La valeur donnée représente la moyenne de trois mesures ± SEM)

Annexe 2 : Calcul du rendement de l'huile essentielle.

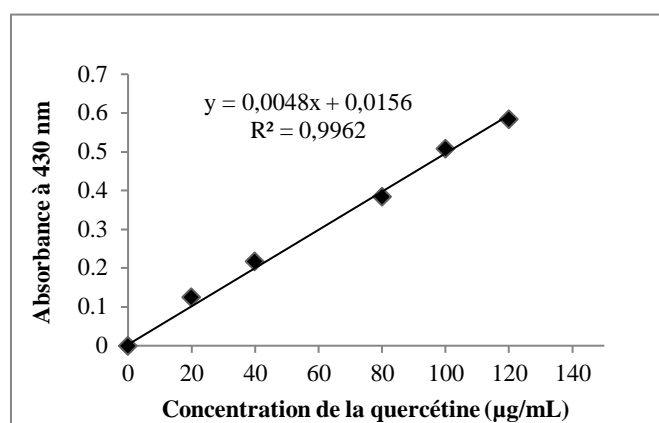
Pour calculer le rendement de l'extraction de l'huile essentielle de thym par hydrodistillation, nous avons utilisé la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'huile essentielle extraite (g)}}{\text{Masse initiale du thym utilisé (g)}} \times 100$$

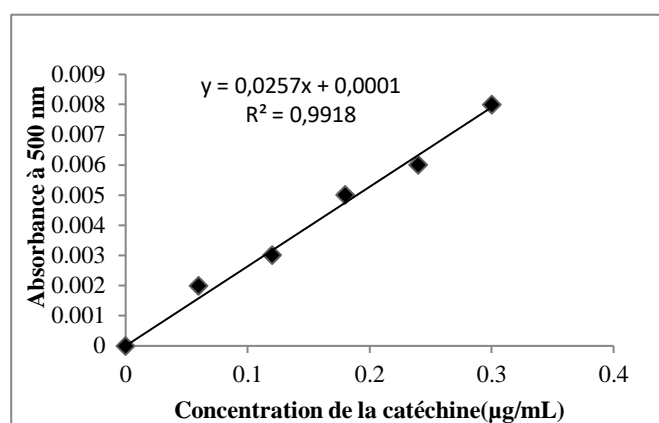
Le rendement de l'extraction est de : **52,85 %**.



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.



Annexe 4 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.



Annexe 5 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Annexe 6 : listes des réactifs chimiques spécifiques utilisés

Réactifs	Non complet (code)	Firme
RFC	Le réactif Folin-Ciocalteu	Sigma
AG	L'acide gallique	Biochem. (Chemopharma)
La Quercétine	/	Aldrich
La vanilline	/	Biochem. (Chemopharma)
La catéchine	/	Sigma
DPPH	2.2-diphényle-1-picrylhydrazyl	ALDER