

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de biologie



MEMOIRE

Présenté par

CHOUARI Hadjer Rachida et BOURAS Nafissa

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En sciences biologiques

Option : Infectiologie

Thème

Evaluation de l'activité biologique de l'extrait hexanique de
Thymus ciliatus

Soutenu le 23/06/2022 devant le jury composé de :

Présidente	ALLIOUA Meryem	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	BOUALI waffa	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	MEDJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

ملخص:

تحتوي المستخلصات الطبيعية من النباتات على مجموعة متنوعة من الجزيئات البيولوجية. *Thymus ciliatus* هو نوع عفوي ، من عائلة Lamiacées المعروفة بآثارها المفيدة على صحة الانسان ، تحت استخدامات مختلفة مثل الحقن ، والمواد الحافظة الغذائية ، او حتى الاطباق المنكهة. تهدف الدراسة الحالية الى تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمحللة للدم لمستخلصات hexanique للجزء العلوي من *Thymus ciliatus* المحصودة في منطقة عين فزة بتلمسان. تم استخراج تسريب الجزء العلوي من *Thymus ciliatus* في hexane. يتم تجفيف المستخلصات التي تم الحصول عليها واستخدامها لتقدير نشاطها المضاد للأكسدة والمحلل للدم. تستخدم طريقة FRAP لتقييم نشاط مضادات الاكسدة في المختبر للنبات. اظهر مستخلص hexane قدرة على تقليل الحديد بنسبة $EC_{50} = 1,19 \text{ mg/ml}$ يحتوي مستخلص hexane من *Thymus ciliatus* على تأثير مضاد للأكسدة مهم، ولكن هذا النشاط لا يزال اقل من تأثير الجزيء المرجعي (حمض الاسكوربيك) مع $EC_{50} = 0,108 \text{ mg/ml}$ سمح لنا التأثير الانحلالي بملاحظة ان مستخلص hexane له قوة انحلالية، فهو يتسبب في انحلال الدم بنسبة 50 % عند $EC_{50} = 1,67 \text{ mg/ml}$

الكلمات المفتاحية: *Thymus ciliatus*, FRAP, مستخلص hexane نشاط مضادات الاكسدة، التأثير الانحلالي

Résumé :

Les extraits naturels issus des plantes utilisées en médecine traditionnelle contiennent une variété des molécules biologiques. *Thymus ciliatus* est une espèce spontanée, de la famille des Lamiacées connu pour ces effets bénéfiques sur la santé de l'être humain, sous différents usages comme des infusions, des conservateurs alimentaires, ou même pour l'aromatization des plats.

La présente étude vise à évaluer l'activité antioxydante et l'effet hémolytique de l'extrait hexanique de la partie aérienne de *Thymus ciliatus*, récoltée dans la région de Ain Fezza, Tlemcen.

Une extraction par infusion a été effectuée de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* dans l'hexane. L'extrait obtenu est séché et utilisé pour estimer leur activité antioxydante et hémolytique.

La méthode de réduction de FRAP est utilisée pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* de la plante. L'extrait hexanique a montré une capacité de réduire le Fer avec une EC_{50} de 1,19mg/ml.

L'extrait hexanique de *Thymus ciliatus* exerce un effet antioxydant important, mais cette activité reste toujours inférieure à celle de la molécule de référence (acide ascorbique) avec une EC_{50} de 0,108mg/ml. La détermination de l'effet hémolytique nous a permis de constater que l'extrait hexanique possède un pouvoir hémolytique, il provoque une hémolyse de 50% à une EC_{50} de 1,67 mg/ml.

Mots clés : *Thymus ciliatus*, FRAP, extrait hexanique, activité antioxydante, effet hémolytique.

Abstract:

Natural extracts from plants used in traditional medicine contain a variety of biological molecules. *Thymus ciliatus* is a spontaneous species, from the Lamiaceae family known for its beneficial effects on human health, under different uses such as infusions, food preservatives, or even for flavoring dishes.

The present study aims to evaluate the antioxidant and haemolytic activity of hexane extracts of the aerial part of *Thymus ciliatus*, harvested in the region of Ain Fezza, Tlemcen.

An infusion extraction was performed of the aerial part of *Thymus ciliatus* in hexane. The extracts obtained are dried and used to estimate their antioxidant and haemolytic activity.

The FRAP iron reduction method is used to assess the *in vitro* antioxidant activity of the plant. The hexane extract showed an ability to reduce iron with an $EC_{50} = 1,19\text{mg/ml}$.

The hexane extract of *Thymus ciliatus* has a significant antioxidant effect, but this activity is still lower than that of the reference molecule (ascorbic acid) with an $EC_{50} = 0,108\text{mg/ml}$.

The determination of the haemolytic effect allowed us to observe that the hexane extract has a haemolytic power, it causes a haemolysis of 50% at $EC_{50} = 1,67\text{ mg/ml}$.

Keyword: *Thymus ciliatus*, FRAP, hexane extract, antioxidant activity, haemolytic effect.

Remerciements

Avant tout nous remercions le bon Dieu, le tout puissant de nous avoir accordé la force,
Le courage, la volonté, la santé afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

En premier lieu, nous tenons à remercier, **Melle BOUALI Waffa** Maitre de conférences A
À la faculté des Science de la Nature et de la Vie et Science de Terre et L'univers,
Département de biologie, pour avoir dirigé ce travail,
Pour son encouragement, pour sa patience et ses conseils judicieux.

Nous remercions à **Mme ALLIOUA Meryem**. Maitre de conférences A, à la faculté des Science de la
Nature et de la Vie et Science de Terre et L'univers, département de biologie pour avoir
Accepté de présider ce travail.

Nous tenons à remercier également **Mme MEDJDOUB Houria**. Maitre de conférences B,
À la faculté des Science de la Nature et de la Vie et Science de Terre et L'univers, département
De biologie pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Et sans oublier **Mr Babali Ibrahim** pour l'identification de la plante.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à nos collègues,
Pour leurs encouragements et leur soutien moral.

Enfin, nous remercions tous qui nous ont apporté leur aide de près ou de loin.

Merci

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents : mon père Abdelkader qui restera toujours présent
Dans mon cœur. ربي یرحمه. Et ma mère Nouria Que nulle dédicace ne puisse exprimer
Mes sincères sentiments, pour leur Patience illimitée, leur encouragement continu,
Leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour
Leurs grands sacrifices, et leurs soutiens tout au long de mes études.

A

Mes beaux-frères : Abdel Rahmen et Fethi
Ma chère sœur Meriem et son mari Abdelaziz et ses petites : Radjaa, Sanaa, et Noudjoud.

A

Mimouni Mohamed un ami et frère de mon père qui ne nous a pas laissé
Dans les circonstances les plus difficiles. et sa femme Laissouf Fatiha et ses filles Zakia et Faiza.

A

La famille de BOURAS et LARBI.
A ma chère voisine BENHAMIDET Farida et son Marie Chakib.

Mes chères amies : Ikram, Rania, Asma.

A

Tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé
Et son oublié mon binôme Hadjer
Et à tous mes amies de la promotion de master infectiologie 2022

Nafissa

Dédicace

Je dédie ce travail à ma chère mère : Ikram et ma grand-mère Fatiha (ma deuxième mère),
Que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur
Patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour
Et respect pour leurs grands sacrifices. Et leurs soutiens tout au long de mes études.

A

Mes chers frères : Anes et Islam

Ma chère sœur : Sarah qui restera toujours présente dans mon cœur, ربي يرحمها

A

Chère oncle Bachir qui était toujours à la place de mon père et ses petits : Ritadj et Khaled.

Mes chères tantes : Dalila, Fatima, Aïcha, Amina et Hanane.

Mes cousins: Yacine, Sarah, Djamel, Djinane, Hind, Oussama, Abdel Hakim, Abdel Hafid,
Haithem, Yasmine, Israa et Naima.

A

Mes chères: Azzedine, Zaki, Kada, Omar et Abdel Hafid ربي يرحمه

Ma chère Nabila et son Marie Djamel et ses enfants: Farah et Benali.

Et la famille CHOUARI et CHIKHI et BELHADJI

A Mes chères amies : Hanaa, Ikram, Amel, Asma et ses familles

Et ma chère amie et mon binôme Nafissa

Et à tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé

Et à tous mes amies de la promotion de master infectiologie 2022

Hadjer

Liste des abréactions

% : Pourcentage.

EC₅₀ : Concentration Médiane.

Fe⁺² : Fer Ferreux.

Fe⁺³ : Fer Ferrique.

H₂O : Monoxyde de dihydrogène.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice.

M₁ : Masse de la boite pétrie vide en gramme.

M₂ : Masse de la boite pétrie après séchage.

µl : Microlitre.

AC : Absorbance de control.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

Ae : Absorbance éthanol + Suspension Cellulaire.

ASAT : Aspartate Aminotransférase.

At : Absorbance de test.

C° : Degré Celsius.

CK : Créatine kinase.

ERA / ERN : Espèce Réactif Azote.

ERO : Espèce Réactif Oxygène.

FRAP : Pouvoir Réducteur de Fer.

FSC : Formule Complète du Sang.

g: Gramme.

GPX : Glutamate Peroxydase.

GR : Globule Rouge.

h : Heur.

HE : Huiles Essentielles.

jrs : Jours.

LDH : Lactate déshydrogénase.

LDL : Lipoprotéine de Basse Densité.

mg : Milligramme.

Min : Minute.

ml : Millilitre.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

Nm : Nanomètre.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

P : Poids de la matière végétale.

PBS : Tampon Phosphate Salin.

R : Rendement.

rmp : Tour par Minute.

ROO : Radical Pyroxy.

SOD : Superoxyde de Dismutase.

T. ciliatus : *Thymus ciliatus*.

TCA : Acide Trichloracétique.

UV : Ultra-Violet.

Liste des figures :

Figure 1 : Répartition de <i>Thymus ciliatus</i> en nord de l'Afrique.....	07
Figure 2 : <i>Thymus ciliatus</i>	07
Figure 3 : Schéma montrant le stress oxydatif.....	12
Figure 4 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires....	16
Figure 5 : Structure de la membrane de globule rouge.....	18
Figure 6 : <i>Thymus ciliatus</i> après récolte et séchage.....	23
Figure 7 : Les étapes de préparation de l'extrait hexanique.	24
Figure 8 : Evaluation de l'activité anti-oxydant (méthode de FRAP)	26
Figure 9 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur de l'extrait hexanique de <i>Thymus ciliatus</i>	27
Figure 10 : Suspension érythrocytaire.....	28
Figure 11 : Evaluation de l'effet hémolytique.....	29
Figure 12 : Extrait hexanique dans un tube Eppendorf.....	31
Figure 13 : Courbe représentative du pouvoir antioxydant de l'extrait hexanique.....	31
Figure 14 : Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide ascorbique de <i>Thymus ciliatus</i>	32
Figure 15 : Courbe représentative de l'effet hémolytique de l'extrait hexanique de <i>Thymus ciliatus</i>	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition chimique des huiles essentielle de <i>Thymus ciliatus</i>	10
Tableau 2 : Les valeurs d' EC ₅₀	32

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	01
Partie 1 : Partie bibliographique	
CHAPITRE 1 : Plantes médicinales, <i>Thymus ciliatus</i> :	
1. Les plantes médicinales :.....	04
1.1. Historique.....	04
1.2. Définition.	04
1.3. Mode d'utilisation de plantes médicinales.....	04
2. La phytothérapie :	05
2.1 Définition.	05
2.2 Les bienfaits de la phytothérapie.	05
3. Présentation de la plante : <i>Thymus ciliatus</i>	06
3.1 La famille des lamiacées.	06
3.2 Origine et répartition géographique.	06
3.3. <i>Thymus ciliatus</i> :	07
3.3.1. Description morphologique de <i>Thymus ciliatus</i> :	07
3.3.2. Nom vernaculaire.....	08
3.3.3. Systématique de <i>Thymus ciliatus</i>	08
3.4. Les huiles essentielles :	09
3.5. Propriétés et usage.	10
Chapitre 2 : Stress oxydatif et Effet hémolytique :	
I. Stress oxydatif :	12
1. Définition :.....	12
2. Les espèces réactives de l'oxygène :.....	13
2.1. Définition.....	13
2.2. Les radicaux libres :	13
2.2.1. Les sources endogènes.	13
2.2.2. Les sources exogènes.	14
3. Conséquences du stress oxydatif :	14
3.1. Conséquences moléculaires.	14
3.1.1. Les dommages oxydatifs aux lipides.	14
3.1.2. Les dommages oxydatifs aux protéines.	14
3.1.3. Les dommages oxydatifs à l'ADN.	14

3.2. Les maladies liées aux stress oxydant.	15
4. les antioxydants :	15
4.1 Les antioxydants endogènes.	15
4.2 Les antioxydants exogènes.	16
II. Effet hémolytique :	17
1. Le sang.	17
2. Constitution du sang :	17
2.1 Les globules rouges.	17
2.1.1. La membrane érythrocytaire.	17
2.2 L'hémoglobine.	18
2.3 Les globules blancs.	18
2.4 Les plaquettes.	18
3. La formule sanguine complètes (FSC).	18
4. L'hémolyse : généralité.	19
4.1 Hémolyse in vivo	19
4.2 Hémolyse in vitro.	19
5. Processus d'hémolyse.	19

Partie 2 : Partie expérimentale

Matériel et méthode

1. Objectif.	23
2. Matériel végétal.	23
3. Préparation de l'extrait :	24
3.1 Préparation de l'extrait hexanique.	24
3.2 Calcule du rendement.	25
4. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait :	25
4.1 Principe.	25
4.2 Solution à préparer.	25
4.3 Mode opératoire.	25
4.4 Protocole.	27
5. Evaluation de l'effet hémolytique :	28
5.1 Préparation de la suspension érythrocytaire.	28
5.2 Préparation de l'extrait.	28
5.3. Mode opératoire.	28

Résultats et interprétations

1. Extraction :	31
1.1 Aspect et rendement.	31
2. Évaluation de l'activité antioxydant par la méthode de FRAP :	31
2.1 Effet de l'extrait hexanique.	31
2.2 Effet de l'acide ascorbique.	32
2.3 Calcule de la concentration efficace 50.	32
3. Evaluation de l'effet hémolytique de l'extrait hexanique de <i>Thymus ciliatus</i>	33
Discussion	35
Conclusion générale.....	38
Références bibliographiques	40
Annexes	51

Introduction générale

Introduction générale

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et est aussi devenue aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs, et d'autres parts, du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce et sans effet secondaire. Les plantes sont très utilisées dans le secteur agroalimentaire pour leurs effets multiples. Ces dernières sont aussi utilisées comme conservateur car elles peuvent limiter l'oxydation des lipides.

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments il s'est avéré, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés à leurs métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutiques comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques et en particulier antioxydants qui défendent contre le stress oxydant (**Ouelbani *et al.*, 2016**).

L'excès des espèces réactives de l'oxygène peut entraîner un stress oxydatif et endommager de nombreuses molécules biologiques ; il est considéré comme un mécanisme pathogène qui provoque différentes maladies chroniques et souvent associé à la douleur et à l'inflammation (**Diaconu, 2019**). En effet l'organisme possède ses propres moyens de défenses lui permettant de lutter contre ces radicaux libres (**Koechlin, 2006**).

Les antioxydants sont des substances vitales qui possèdent la capacité de protéger le corps des dommages causés par le stress oxydatif induit par les radicaux libres. Une variété d'antioxydants anti-radicaux libres existe dans le corps, dont beaucoup sont dérivés de sources alimentaires comme les fruits, les légumes et les thés (**Souri *et al.*, 2010**).

L'hémolyse est un phénomène physiologique irréversible qui peut provoquer la rupture des membranes des globules rouges, entraînant la libération d'éléments des hématies dans le plasma, en particulier la libération d'hémoglobine. Ce phénomène peut être observé à l'œil nu par l'apparition de la teinte rose à rouge dans l'échantillon après centrifugation ou par spectrophotométrie en mesurant la densité optique du surnageant (hémoglobine) (**Mezzou *et al.*, 2006**).

L'hémolyse peut devenir pathologique et entraîner la destruction prématurée des globules rouges. On peut distinguer deux types d'hémolyses, l'une est physiologique et l'autre est pathologique (hyper hémolyse) (**Lippi et al., 2011**).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Mauris et al., 1997**). *Thymus ciliatus* est une plante de la famille des lamiacées, une espèce très connue par nos ancêtres pour leurs propriétés thérapeutiques (**El Hilan, 2015**).

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante des extraits riches en acides gras de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* : l'extrait hexanique par la méthode de pouvoir réducteur du fer (FRAP) et la détermination de l'effet hémolytique de *Thymus ciliatus*

Ce travail est structuré en deux grandes parties :

✓ La première partie est d'ordre théorique comporte deux chapitres, nous aborderons dans le premier des données sur les plantes médicinales et les propriétés thérapeutiques de *Thymus ciliatus*, le deuxième est réservé au stress oxydatif et l'effet hémolytique.

✓ La deuxième partie est d'ordre expérimental qui repose sur deux volets, le premier concerne l'extraction et la préparation des extraits hexaniques de *T. Ciliatus*. Le second volet est consacré à une évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de FRAP et la détermination de l'effet hémolytique de *Thymus ciliatus*.

✓ Finalement, la dernière partie consacrée pour une conclusion générale.

Partie

Bibliographique



Chapitre 1 :

Plantes médicinales, *Thymus ciliatus*

1. Les plantes médicinales

1.1. Historique

L'histoire des plantes médicinales et aromatiques est associée au développement de la civilisation. Les plantes ont toujours été utilisées pour l'habillement, l'alimentation, la chasse et guérison (Cock, 2011). La connaissance des préparations médicinales et de leurs efficacités est transmise oralement depuis des générations et est parfois réécrite dans la littérature sur les médicaments. Les premiers documents décrivant l'utilisation des plantes datent de plus de 6000 ans. Des tablettes d'argile sumériennes détaillent les usages de plus de 1000 plantes médicinales et aromatiques (Afzal *et al.*, 2002).

Aujourd'hui, 20000 à 25000 espèces végétales sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments sont d'origine végétale (Decaux, 2002), dont 25 % contiennent au moins une molécule bioactive d'origine végétale (Sofowora, 2010). Les extraits de différents produits sont élaborés sous différentes formes dont les plus importantes sont : les gélules végétales, Les tisanes, les teintures mères, les suspensions entières de plantes fraîches, les infusions de glycérine et les huiles essentielles.

1.2. Définition

On appelle plante médicinale toute plante, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses renferment de nombreux principes actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques.

Les plantes médicinales sont utilisées pour les propriétés thérapeutiques par toute ses parties ou l'un des (tiges, racines, feuilles ...) qui sont tous des principes actifs différents. Les plantes médicinales sont utilisées depuis au moins 7000 ans avant par les hommes et son à la base de la phytothérapie. Leur efficacité est due à leurs composés nombreux et variés selon les espèces Par exemple : thym, romarin, menthe pouliot, calendula (Ailloud *et al.*, 2012).

1.3. Mode d'utilisation des plantes médicinales

Les plantes médicinales peuvent être fabriquées à partir de parties de plantes utilisées. Les tiges, Les racines, les fleurs, les feuilles peuvent être utilisées comme critères pour distinguer différentes plantes aromatiques. Les modalités d'utilisation de ces différentes parties de la plante peuvent permettre de spécifier et de classer les plantes aromatiques. Ces différentes parties peuvent être utilisées à l'état naturel, broyées, séchées, bouillies extraites et trempées. L'utilisation combinée est également fréquente (Neffati et Sghaier, 2014).

Chaque plante est constituée de milliers de substances. Ces composés doivent être activés lorsqu'ils sont associés à certains produits chimiques. Ils révèlent leur côté pharmacologique.

Au cours des dernières décennies, la recherche pharmaceutique a déchiffré les propriétés chimiques de plusieurs plantes médicinales tel que : la société pharmaceutique a réussi en découvrant de nouvelles formules chimiques au profit des patients et en reproduisant de plusieurs produits chimiques (**Kunkele et Lobmeyer, 2007**).

Toutes les plantes médicinales contiennent beaucoup de substances utilisables dans la composition de médicaments utiles (hétérosides, alcaloïdes) ou à des fins thérapeutiques (**Sofowora, 2010**).

Dans certains pays, l'homme utilise des plantes aromatiques et médicinales pour certaines maladies comme : *Thymus ciliatus* (**Sahi, 2016**).

2. La phytothérapie

2.1. Définition

La phytothérapie en grec « phyton » = végétal et « thérapie » = soigner est l'art de soigner par les plantes (**Vacheron, 2010**). La phytothérapie permet à la fois au docteur de traiter le malade et les symptômes de sa maladie. Le malade est entrepris en charge dans sa globalité de comprendre l'origine de ses symptômes et d'en prévenir l'apparition. La phytothérapie est une médecine à base de plante selon l'Organisation mondiale de la santé elle est considérée comme une médecine alternative et ou traditionnels. L'utilisation de cette médecine exige la connaissance des compositions de la plante, leurs mode actions (Elle n'est ni toxique, ni atoxique, ni iatrogène si elle est pratiquée dans des conductions rigoureuses excluons toute improvisation et demandant un enseignement précis.

2.2. Les bienfaits de la phytothérapie

Malgré les grandes avancées de la médecine moderne, la phytothérapie offre de nombreux avantages. N'oublions pas qu'à toutes les époques à l'exception des cent dernières années, les hommes n'avaient que des moyens de se guérir d'une maladie, qu'il s'agisse d'une maladie bénigne, un Rhume, ou d'une maladie plus grave comme le paludisme causé par la tuberculose (**Babulka, 2007**).

Récemment, les traitements à base des plantes reviennent au plan, car l'efficacité des médicaments comme les antibiotiques décroît. Les virus et les bactéries sont peu à peu adaptés aux médicaments et leurs résistent de plus en plus (**Iserin et al., 2001**).

La phytothérapie présente de nombreux avantages par rapport aux médicaments modernes. Substances biologiques actives des plantes des produits dus au métabolisme d'un organisme vivant, une partie de ceux -ci sont assimilés par le corps humain de façon plus naturelle que les médicaments synthétiques (**Petkov et al., 1979**).

3. Présentation de la plante : *Thymus ciliatus*

3.1. La famille des Lamiacées

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme une source mondiale d'extraits à fort pouvoir antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire et antifongique et d'épices (**Gherman et al., 2000 ; Hilan et al., 2006**). Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans 250 genres (**Miller et al., 2006**). Les lamiacées sont très nombreuses comme : *salvia officinalis*, *Menthaspicata* (**choudhury, 2006**). *Rosmarinus officinalis* (**Gachkar et al., 2007**), et de nombres espèces de *Thymus* qui ont été abondamment étudiées (**Elhabazi et al., 2006 ; Rota et al., 2008**).

Les labiées sont des arbustes, sous arbrisseaux, ou plantes herbacées, à feuilles généralement opposées sans stipules et tige quadrangulaires. Fleurs pentamères hermaphrodites. Calice à cinq divisions et corolle bilabée longuement tubuleuse des fois 4 à 5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure bilobée. Selon **Quezel et santa (1962)**, ovaire super à carpelles originellement biovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison. Etamine 4 et la cinquième très réduite ou nulle, parfois deux staminodes et deux étamines.

3.2. Origine et répartition géographique

Selon **Morales (1986)**, le genre *Thymus* est inclut dans les continents euros asiatique, Groenland méridional et la partie nord de l'Afrique.

Selon **passet (1979)**, le genre *Thymus* définit comme une ancienne espèce tertiaire, originaire du sud-est de l'Espagne.

D'après **Santa et Quezel (1962)**, les différentes espèces du genre *Thymus* rencontrées dans la rocaille, les pelouses et dans toutes les régions montagneuses.

Le thym est une plante reconnue en Algérie, les espèces qui y existent sont réparties le long du national, du nord Algérois à l'Atlas saharien, et dû à l'Oranais (**Kabouche et al., 2005**).

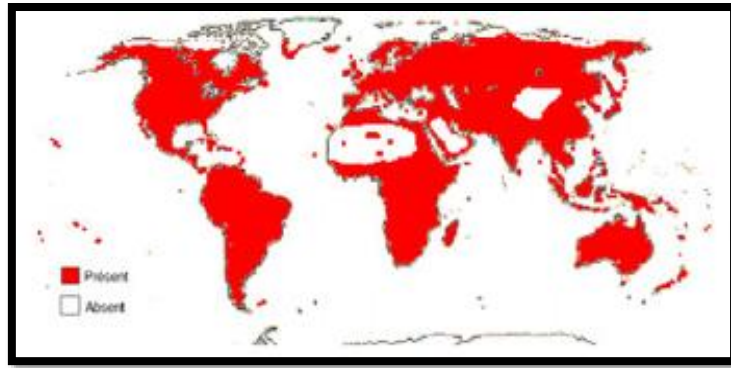


Figure 1 : Répartition géographique de la famille des lamiacées dans le monde. (Aouina et Iakhdari, 2019).

3.3. *Thymus ciliatus*

Le mot « Thym » provient du terme grec « Thymos » qui signifie « parfumer » en raison de l'odeur agréable que dégage la plante (Pariente, 2001) et de son goût amer et chaud.



Figure 2 : *Thymus ciliatus*

3.3.1. Description morphologique de *Thymus ciliatus*

Le *Thymus ciliatus* est une espèce spontanée (Marouf, 2000). C'est un arbrisseau de petite taille, mais qui pouvant former des touffes bien étalées sur le sol ; les feuilles florales sont différentes des feuilles caulinaires. En général fortement dilatées à leur portion inférieure. Retrouvée dans les broussailles, les matorrals, sur substrats calcaires et siliceux et sur sols rocailleux et bien drainés (Benabid, 2000).

❖ **Appareil végétatif**

- ✚ **Racine** : système radicalaire pivotant-térale. La multiplication se fait par rhizome.
- ✚ **Tige** : très ramifiées et ligneuses en sa partie inférieure.
- ✚ **Feuilles** : *Thymus ciliatus* à de nombreuses petites feuilles florales peut dilatées et opposées sans stipules courtement pétiolées. Glabre, oblongues mais généralement ciliées à la base, un peu enroulées sur les bords colorés par un vert.

❖ **Appareil reproducteur**

- ✚ **Corolle** : nettement bilabiées
- ✚ **Androcée** : à quatre étamines didynames.
- ✚ **Fleur** : Très grande violacées, ou rouge, dépassent 1 cm de long selon **Quezel et Santa (1963)**.
- ✚ **Ovule** : Anatrope
- ✚ **Graine** : Exalbuminée
- ✚ **Gynécée** : à deux carpelles soudés avec style bifide et fausse cloison.
- ✚ **Fruite** : c'est un tétrakène-lisse, localisé longtemps au calice desséché. Il est caractéristique des matorrals calcaires.

3.3.2. Nom vernaculaire

Plusieurs appellations de « *Thymus ciliatus* » ont été dans la littérature (**Quezel et Santa, 1963**).

- ✚ Nom Français : Thym.
- ✚ Nom Berbère : Djertil.
- ✚ Nom Arabe : Zaitra, Zaateur.

3.3.3. Systématique de *Thymus ciliatus*

Selon **Santa et Quezel (1962)**, ont donné la classification qu'occupe *Thymus ciliatus* *Ssp. Eu -ciliatus* dans la systématique mais après des années, une légère modification a été enregistrée dans une nouvelle classification mentionnée par **Dobignard et Chatelain (2012)**.

Embranchement.....Tracheophyte.
 Sous EmbranchementSpermatophyte.
 ClasseMagnoliopside.
 Sous ClasseAsteridées.
 Ordre.....Lamiales.
 Famille.....Lamiacées.

Genre*Thymus* L.

Espèce*Thymus Munbyanus*.

Sous – Espèce*Thymus Munbyanus Subsp. Ciliatus*.

3.4. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits parfumés et volatils qui sont extraits de plusieurs plantes par distillation à la vapeur, pressage ou incision des plantes qui les contiennent (**Benayad, 2008**). Elles sont des substances naturelles complexe de métabolites volatils secondaires, qui sont séparés par injection mécanique ou distillation aqueuse (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

Plusieurs HE sont produits à partir de différent espèces et parties des plantes, les organes reproducteurs pouvant se situer dans : la fleur, la feuille, le fruit, la racine, la graine ou la tige. Par fois l'extraction des HE se fait à partir d'une seule plante (**Guenther, 1948**). Elles sont constituées de cellules spéciales. Généralement il est collecté dans un canal secret ou dans des poches, puis transporté pendant la croissance d'autre parties de plantes (**Bernard, Prneau et al., 1988**).

L'huile essentielle de *Thymus ciliatus* est constituée principalement de β -E -ocimène, thymol et d' α -terpinène avec d'autres compositions à des teneurs relativement faibles : carvacrol, linalol, δ -3-carène, 1.8-cinéole (**Benabid, 2000**).

Les principaux métabolites secondaires du *Thymus* sont les flavonoïdes. Le germe *Thymus* appartient à la sous-famille des Nepetoideae, réputée pour stocker des flavonoïdes polyméthoxylés (**Ismaili et al., 2001**). La thymusine (5,6- dihydroxy-7,8,4 ' – triméthoxyflavone), la lutéoline et la 6-hydroxylutéoline sont des chémo-marqueurs des espèces *Thymus*.

Tableau 1 : Composition chimique des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* (Benabid, 2000 ; Ismaili *et al.*, 2001).

N°	Composés	%	IK (indicekovât)
1	Sabinène	0,56	976
2	α - pinène	0,35	931
3	α -thujène	0,64	926
4	α -terpinène	12,3	1018
5	!! -3- carène	3,1	1011
6	B – E- ocimène	25,8	1050
7	1,8 – cinéole	2,63	1033
8	Linalol	3,24	1098
9	γ – terpinène	0,74	1062
10	p- cymène	0,47	1026
11	Terpin-4- ol	0,5	1177
12	Xyde de caryophylline	0,25	5921
13	Thymol	44,2	1290
14	Thymolméthyléther	0,23	1235

3.5. Propriétés et usage

Une plante aromatique très odorante, utilisée en Algérie pour la préparation de divers plats ; recommandée contre tous les types de faiblesse et indiquée dans les cas de crampes d'estomac ; de pneumonie et de palpitation et aussi dans les affections de la bouche, et les accidents articulaires (Djerroumi et Nacef, 2004). Le thym est également considéré comme l'un des remèdes les plus utiles et les plus efficaces dans le traitement des maladies respiratoires : Rhume, angine, grippe (El Hilan, 2015).

La présence des composés phénoliques (tels que carvacol, thymol), en grand concentration dans l'huile essentielle confère au thym la propriété antioxydante (Economou *et al.*, 1991 ; Ternes *et al.*, 1995).

CHAPITRE 2 :

Stress oxydatif et l'effet hémolytique

I. Stress oxydatif

1. Définition

Le stress oxydatif se définit par un déséquilibre entre pro-oxydants cellulaire et les niveaux d'antioxydants (**Luczaj et al., 2017**). Les pro-oxydants incluent les EROs et ERAs, qui sont des composés réactifs dérivés de l'azote et l'oxygène (**Turrens, 2003**). Malgré leur potentiel inducteur de dommages cellulaires, les EROs sont toujours produits en conditions normales par le métabolisme cellulaire aérobie et sont importants à plusieurs processus par exemple la mort cellulaire, la transduction du signal et la régulation du cycle cellulaire (**Pham-Huy et al., 2008 ; Wojtala et al., 2014**). Dans une cellule saine, les défenses antioxydantes permettent de contrôler les niveaux d'EROs intracellulaires.

Par conséquent, le stress oxydatif peut provenir d'un excès d'EROs en raison d'une diminution des défenses antioxydantes (**Pisoschi et Pop, 2015 ; Poprac et al., 2017**).

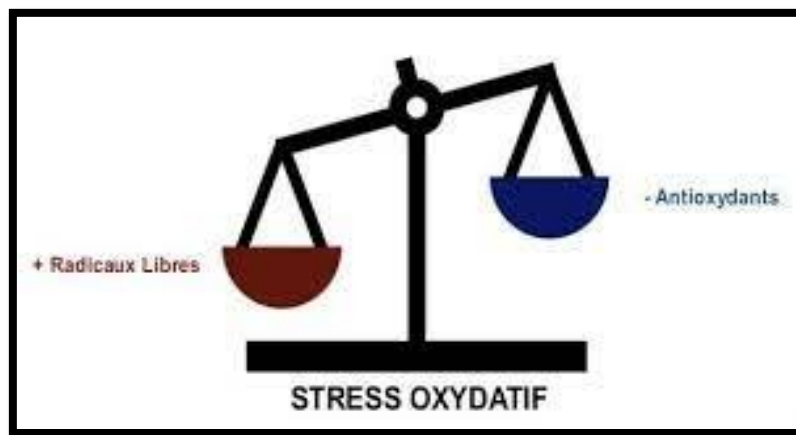


Figure 3 : Schéma montrant le stress oxydatif (**Belaich et Boujraf, 2016**).

Selon **Mercan (2010)**. L'augmentation du stress oxydatif dans notre organisme est liée à l'environnement dans lequel nous vivons et le mode de vie, par exemple :

- Prise de médicaments
- Stress thermique
- Agents infectieux
- Tabagisme
- Stress intellectuel
- Pollution par exemple ; pollutions par métaux lourds
- Expositions aux radiations
- Expositions prolongées au soleil

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

2.2. Définition

On distingue alors deux grands groupes de molécules qui réagissent au stress oxydatif : radicalaires et non radicalaires. La réactivité d'un radical libre varie d'un radical à un autre et dépend de l'environnement où ils se trouvent. Leurs constantes de vitesse de réaction sont très élevées 10^5 à $10^{10} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{S}^{-1}$ (Delattre *et al.*, 2005).

Il est bien connu que EOR et ERN jouent un double rôle dans les systèmes biologiques car ils peuvent être à la fois nocifs, bénéfiques et même vitaux pour l'organisme (Valko *et al.*, 2004).

- ✓ Bénéfiques : lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques dans les réponses cellulaires, telles que la lutte contre les agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaires.
- ✓ Nocifs : lorsqu'il existe un déséquilibre entre des ERO et des ERN et le système de défense, entraînant l'apparition de nombreuses maladies graves (cancer, arthrite, maladies neurodégénératives) et l'apparition des dégâts irréversibles pour la cellule (ADN, lipides et protéines) (Evans et Halliwell, 1999).

2.3. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs couches périphériques, cet électron célibataire a pris naissance suite à un apport d'énergie suffisant et susceptible (Halliwell et Gutteridge, 2015), rendant ces espèces particulièrement instables. Il existe deux sources différentes de ces radicaux libres (Phaniendra *et al.*, 2015).

2.3.1. Les sources endogènes

Plusieurs réactions enzymatiques sont considérées comme une source essentielle des espèces réactives d'oxygènes incluant : lipoxigénase, NADPH oxydase, xanthine oxydase (enzyme dans le foie). La mitochondrie est un élément fondamental pour le fonctionnement de la cellule, c'est au niveau d'elle s'effectue la respiration cellulaire. La consommation d' O_2 et différentes réactions du transfert des électrons (pour obtention d'énergie) produisent performance les ERO. Les ions métalliques présent dans l'organisme comme : Fer, cuivre, peuvent coopérer avec des espèces moins réactives pour produire des radicaux hydroxyles (Poprac *et al.*, 2017).

2.3.2. Les sources exogènes

Les espèces réactives oxygènes sont générées sous l'effet de stress environnementaux par exemple : la pollution, la consommation de certains médicaments (**Kalam et al., 2015**).

Dans les phénomènes de stress oxydant prenant place dans les milieux biologiques, les radicaux libres qui interviennent, partagent pour d'avoir un électron célibataire sur un atome d'azote ou d' O_2 . Ce phénomène leur donne la dénomination d'espèces réactives de l'azote (EAR) ou de l'oxygène (EOR), (**Weidinger et Kozlov, 2015**).

3. Conséquences du stress oxydatif

3.1 Conséquences moléculaires

3.1.1. Les dommages oxydatifs aux lipides

L'oxydation des lipides, en particulier des acides gras polyinsaturés, provoque des modifications de la fluidité de la membrane cellulaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes conduit à la formation de lipoprotéines à faible teneur en graisse. La densité (LDL) est oxydée et sera capturée par des récepteurs macrophages spécifiques. Elle se transforme en cellules spumeuses, constituant une étape de formation de l'athérosclérose (**Nakajima et al., 2006**).

3.1.2. Les dommages oxydatifs aux protéines

Les acides aminés ont une sensibilité différente aux radicaux libres. Les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquence, l'apparition de groupement carbonyle, des clivages de chaînes peptidiques et des bi-tyrosine intra et inter-chaîne. La plupart des dommages irréparables et peuvent provoquer des modifications fonctionnelles importantes. Certaines protéines oxydées sont peu dégradées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et le compartiment extracellulaire (**Haleng et al., 2007**).

3.1.3. Les dommages oxydatifs à l'ADN

Les acides nucléiques sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux libres. L'attaque de l'ADN entraînera une modification des bases pyrimidiques et puriques, ou des cassures en double hélice et mutations ponctuelles, éventuellement avec conséquences

graves pour la synthèse des protéines et la transmission de l'intégrité de patrimoine génétique (Thanan *et al.*, 2014).

3.2. Les maladies liées aux stress oxydant

Le stress oxydatif sera une cause initiale majeure de plusieurs maladies apparaissent avec l'âge, cela dû aux vieillissements réduit la capacité antioxydantes qui augmentent la production des radicaux par la mitochondrie. En provoquant l'apparition de nombreux biomolécules anormales et la sur expression de certains gènes. Ces derniers peuvent causées des maladies comme : le cancer (Sosa *et al.*, 2013), la sclérose latérale amyotrophique, le cataractes, l'œdème pulmonaire, le syndrome de détresse respiratoire aigüe. Le stress oxydatif est également l'un des facteurs qui influencent la présence des maladies multifactoriels par exemple : les troubles cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer (Sayre *et al.*, 2001), le diabète, le Rhumatisme (Favier, 2003).

4. Les antioxydants

Les antioxydants sont définis comme toute molécule, à des concentrations relativement faibles, ont la capacité à entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables à retarder, inhiber ou protégeant contre l'oxydation des substrats biologiques, ces composés réagissent avec ERO, les rendant ainsi inactifs (Vansant, 2004).

4.1. Les antioxydants endogènes

Il y'a plusieurs systèmes enzymatiques oxydants qui sont les plus efficaces chez les plantes et aussi chez les mammifères sont : la catalase, la superoxyde dismutase et le glutamate peroxydase (Mates *et al.*, 1999 ; Sharma *et al.*, 2012).

La catalase, principalement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, et capable à la transformation de peroxyde d'hydrogène en O_2 moléculaire et en H_2O . La superoxyde dismutase joue un rôle majeur dans la dismutaion des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en O_2 moléculaire.

L'activité du glutathion peroxydase est la détoxification du peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes de nature lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (Delattre *et al.*, 2005).

D'autres enzymes ont un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante, l'ensemble formant un système complexe comme : glutathion transférase, glutathion réductase.

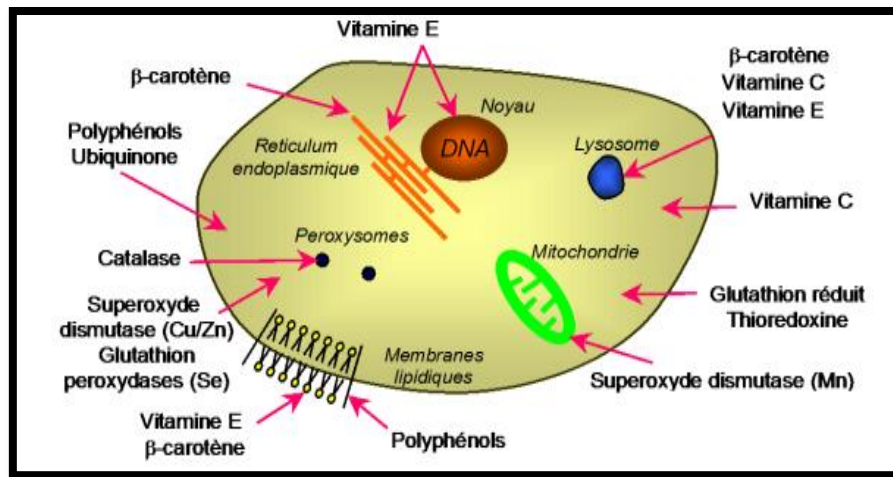


Figure 4 : Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires (Ara rezaire, 2012)

4.2. Les antioxydants exogènes

Les antioxydants chimiques exogènes, comprennent principalement les vitamines C et E, les composés phénoliques, les caroténoïdes (Mecall et Frei, 1999).

La vitamine E, utilisée généralement pour désigner les différents tocotriénols et tocophérols ont un rôle essentiel dans l'antioxydants alimentaires, et la protection des lipoprotéines et structures membranaires ou (rôle physiologique) ou pour lutter contre stress oxydant chez l'être humaine. Elle prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux LOO (Kaiser *et al.*, 1990).

La vitamine C ou acide ascorbique est une molécule hydrosoluble, présente dans la plupart des légumes et les fruits (non synthétisée par l'homme). Elle joue un rôle important qui est la protection contre l'oxydation membranaire (Retsky *et al.*, 1999).

Les caroténoïdes sont des pigments issus des plantes et microorganismes. Elles sont regroupées en deux grandes familles : les xanthophylles et les carotènes, il y'a environ 600 présents dans la nature. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polygénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO, HO, O_2 , R, par simple addition électrophile et Transfer d'électron. Ils permettent en particulier, de neutraliser O_2 singulet (Valko *et al.*, 2006).

Les composés phénoliques ou les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes. Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à terminer les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert de protons et d'électrons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Schroeter *et al.*, 2002 ; Leopoldini

et al., 2011). L'activation biologiques des composéé phénolique dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier du nombre de groupements hydroxyles (**Schroeter et al.**, 2002). L'activité biologiques des flavonoïdes est généralement dépendante de la position et la nature des substituants. En particulier du nombre de groupements hydroxyles (**Schroeter et al.**, 2002).

II. Effet hémolytique

1. Le sang

Le sang est un fluide corporel dont la fonction principale est de transporter les nutriments oxygène aux tissus biologiques. Il joue également un rôle essentiel dans le système immunitaire. Les cellules sanguines sont : des globules rouges (les érythrocytes), globules blanc (les leucocytes), les plaquettes (les thrombocytes) (**Hoffman, 2008**).

2. Constitution du sang

2.1. Les globules rouges (GR)

Les érythrocytes sont des cellules matures de forme biconcave dont le diamètre varie de 6,8 à 7,5 μm sa durée vie moyenne est de 120 jours (**Mohandas et Gallagher, 2008**).

2.1.1. La membrane érythrocytaire

La membrane érythrocytaire est constituée d'une bicouche lipidique dans laquelle s'intercalent un grand nombre de protéines qui sont attachées au cytosquelette sous-membranaire. Certaines de ces glycoprotéines et certains glycolipides sont exprimés à la surface des globules déterminants des groupes sanguins, le cytosquelette comprend plusieurs protéines dont Spectrine, Actine, Ankyrine (**Manaargadoo-catin et al.**, 2016).

La stabilité de la forme de globule rouge est assurée par la fixation de trois protéines intrinsèques du cytosquelette : la Glycophorine A et C, la protéine 3 (**Gerard et al.**, 2006).

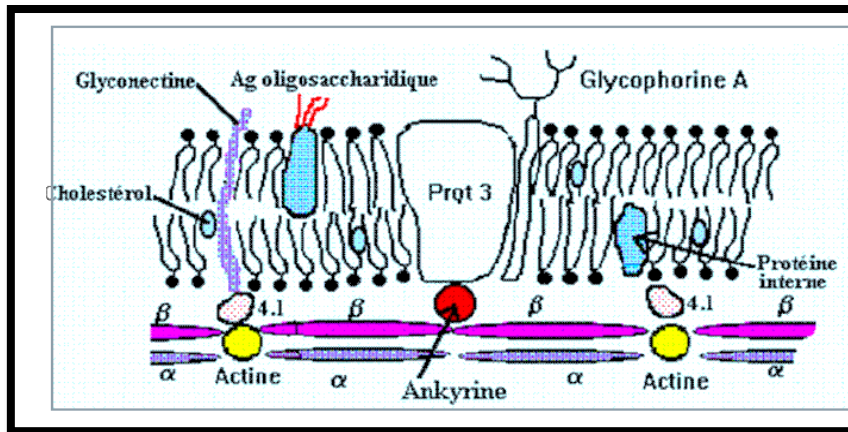


Figure 5 : Structure de la membrane de globule rouge (Zendecki, 2006).

2.2. L'hémoglobine

L'hémoglobine est une protéine étrangère de type métalloporphyrine située dans les érythrocytes et existe à l'état lysé et à une concentration maximale dans les érythrocytes, c'est une molécule composée de deux parties : la partie globine constituée des protéines et la partie hème constitué du fer (Wilson *et al.*, 2010). Elle permet le transport de O₂ des poumons vers les tissus par les globules rouges.

2.3 Les globules blancs

Les globules blancs ou les leucocytes, ont un rôle de protection de l'organisme et la défense contre les substances étrangères les bactéries, les virus, les toxines, les cellule tumorales et les parasites (Marieb *et al.*, 2009).

2.4. Les plaquettes

Les plaquettes sont des petits fragments cellulaires, de forme irrégulière circulent librement dans le sang, ont une durée de vie de 7 à 10 jours. Ils sont responsables de la coagulation sanguine (Hoffman, 2008).

3 La formule sanguine complète (FSC)

Est une analyse automatisée pour l'évaluation des différentes cellules sanguines C'est -à dire les globules rouges, les plaquettes, les globules blancs. Ce sont des éléments symboliques du sang. Eux 45% du volume sanguin. Le plasma, composé majoritairement d'eau, constitue le reste : contient des ions et des minéraux, mais aussi du glucose et des protéines, etc. (Marieb *et al.*, 2019).

4 L'hémolyse : Généralité

L'hémolyse est la destruction prématurée des cellules sanguines lorsque leur durée de vie est inférieure à 100 jours, plutôt que 120jrs qui est le temps normal, qui provoque la libération d'hémoglobines (Kalaiselvi et Vidhya, 2015), et d'autres molécules comme : l'interleukine-33, triphosphate d'adénosine5' et la protéine de choc. L'anémie survient si la moelle ne compose pas (Thomas, 2013).

4.1. Hémolyse in vivo

C'est une hémolyse pathologique intravasculaire aiguë ou chronique se défini par une destruction exagérée des hématies produits, dont la durée de la vie se trouve ainsi raccourcie. Cela conduit souvent à l'anémie (OMS, 2002).

Plusieurs, conditions peuvent provoquer une hémolyse *in vivo* :

- Malformation des globules rouge : la maladie Thalassémies.
- Anomalies de membrane comme : Micro-sphérocytose héréditaire (augmentation de la perméabilité au Na⁺ et à l'eau).
- Certaines infections : virales (hépatites virales).
- Hémolyse auto-immune par la fixation des anticorps sur les GR qui conduit à l'activation du complément pour la destruction du GR par les phagocytes des différents organes (foie et la rate).
- Les effets secondaires de certains médicaments (anti-inflammatoires non stéroïdes), (Mintzer et Billet, 2009).

4.2. Hémolyse in vitro

Elle se réalise dans les tubes, par l'ajout d'eau distillée ou agitation excessive du sang, cela peut provoquer une hémolyse. L'aspiration trop rapide du sang au cours du prélèvement.

Après l'hémolyse *in vitro*, tous les composants des cellules sanguines, y compris le potassium, la LDH et l'ASAT, sont augmentés, quelle que soit la concentration hémoglobine (OMS, 2002).

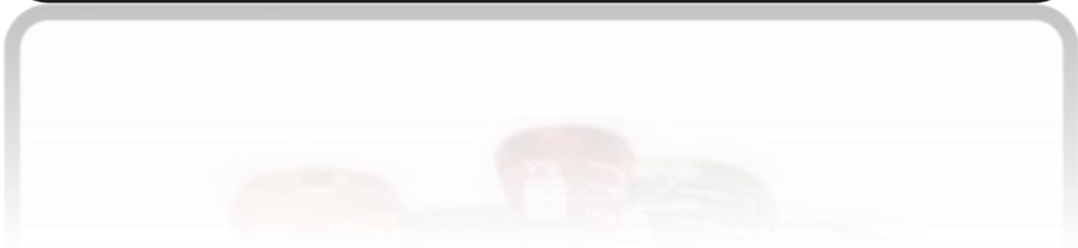
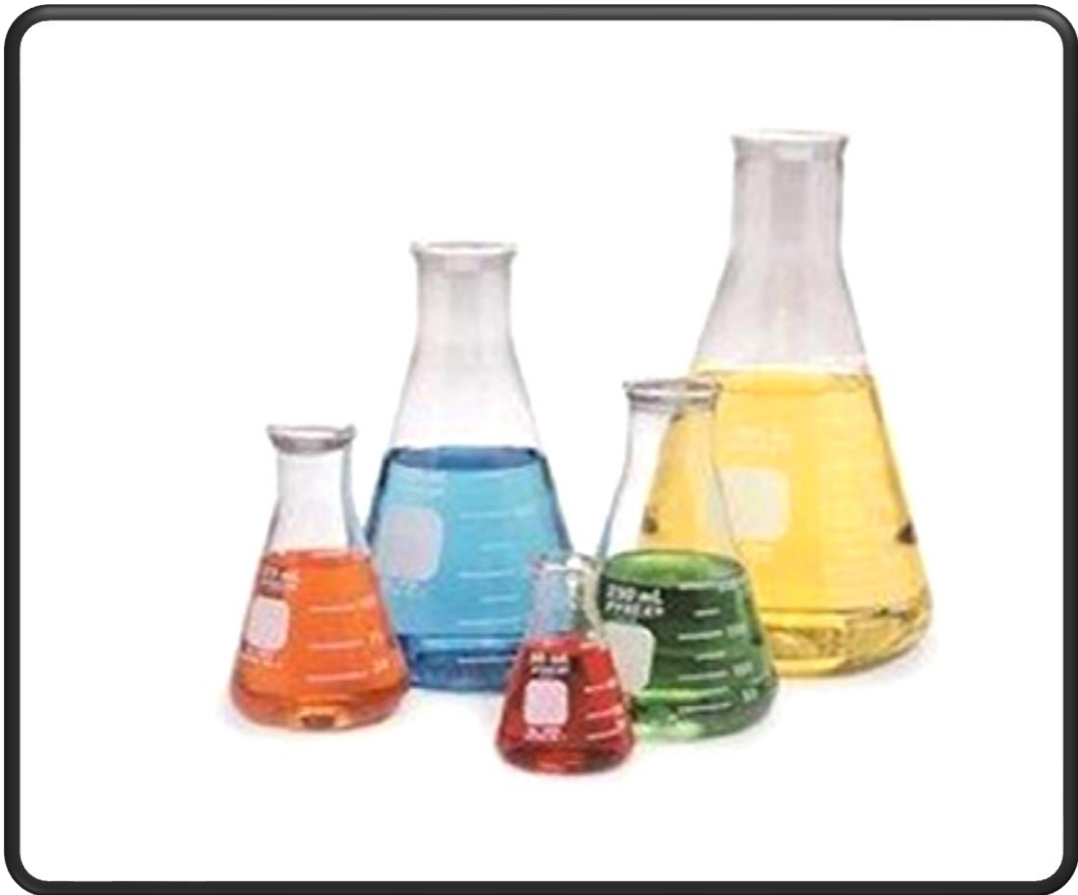
5. Processus d'hémolyse

L'accumulation de modifications de la membrane érythrocytaire au cours du vieillissement (peroxydation des lipides membranaires, formation de néo-antigènes sénescents), sont autant de signaux qui permettent aux macrophages de reconnaître,

Les érythrocytes par les cellules phagocytaires pour éliminer les composants et les réutilisées (**Beaumont et Canon-Hergo, 2005**).

L'hémolyse (hémo =sang ; lyse = perturbation). Est un phénomène physiologique irréversible qui provoque la rupture de la membrane des globules rouges, entraînant la libération des composants des GR dans le plasma, notamment l'hémoglobine. Ce phénomène est mis en évidence par détection visuelle (**Töpfer et al., 2000**), après centrifugation ou par mesure spectrophotométrique de la densité optique du surnageant (hémoglobine), qui apparaît rose à rouge dans l'échantillon (**Mezzou et al., 2006**). L'hémolyse se manifeste par une augmentation des taux d'hémoglobine sérique associées à une augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH), du phosphate de la créatine kinase (CK) (**Ali et al., 2014**), et une diminution des taux d'haptoglobine et d'hémoglobine glycosylée. L'hémoglobine libérée lors de l'hémolyse est dégradée en bilirubine non conjuguée ou conjuguée avec l'hépatoglobine formant un complexe qui sera éliminer rapidement par le foie (**Marchand et al., 1980 ; Guitton et al., 2008**).

Etude expérimentale



Matériel et méthodes

1. Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus* par la méthode de FRAP et la détermination de l'effet hémolytique.

L'étude a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie de la faculté de science de la nature et de la vie de l'université de Tlemcen. L'identification de la plante a été effectuée par Mr BABALI Maître de conférences classe « A » à l'université de Tlemcen.

2. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne (tiges, feuilles, fleurs) de *Thymus ciliatus*, une plante de la famille des Lamiacées, qui a été récoltée au mois de mars 2022 à la commune d'Ain Fezza, wilaya de Tlemcen.

Après la récolte, la plante a été séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière et l'humidité.



Figure 6 : *Thymus ciliatus* après récolte et séchage

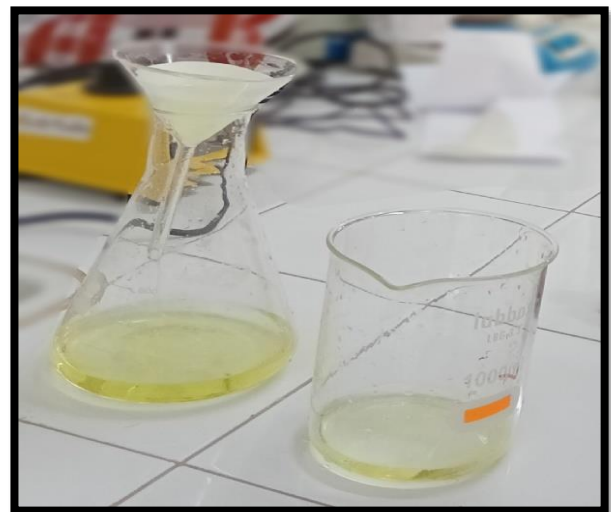
3. Préparation de l'extrait

3.1 Préparation de l'extrait hexanique

- 10 g de la matière végétale sèche est mélangée avec 200 ml de solvant l'hexane préalablement chauffé, le mélange repose pendant une heure à l'obscurité (extraction par infusion).
- Filtration de la solution.
- Évaporation du filtrat à l'aide d'un rotavapor, pour concentrer l'extrait.
- Séchage à l'étuve à 40°C pendant 24 h.
- Récupération du produit.



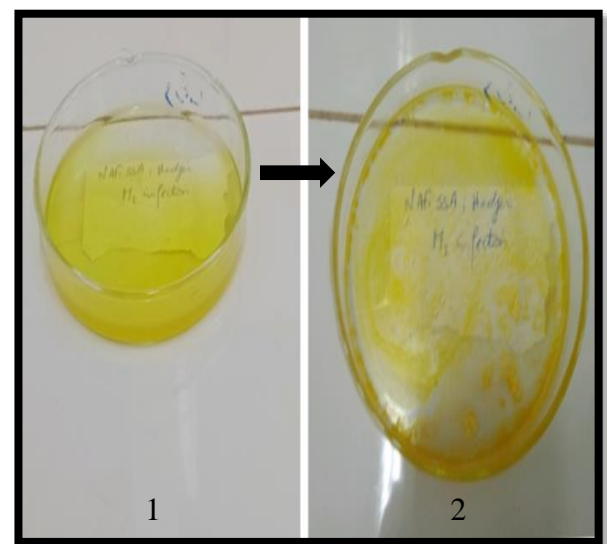
A



B



C



D

Figure 7 : Les étapes de la préparation de l'extrait hexanique.

(A) Solution après infusion, (B) Filtration, (C) Rotavapor.

3.2.Calcul du rendement : après l'extraction. L'extrait séché est récupéré et le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R = [(M2 - M1) / p] \times 100$$

Ou : - **R** : rendement en pourcentage %

- **M2** : la masse de la boîte pétrie après séchage (contient l'extrait) en gramme.

- **M1** : la masse de la boîte pétrie vide en gramme.

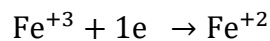
- **P** : 1g (poids de matériel végétal prise d'essai).

4. Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de FRAP (ferric reducing antioxidant power).

4.1.Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est lié à son pouvoir antioxydant. Cette technique mesure la capacité d'extrait à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}). Présent dans le complexe de ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{+2}). Le fer ferrique est jaune se réduit et devient bleu ou vert en présence d'un atome d'électron. Le changement de la coloration du jaune ou bleu ou vert est proportionnel à l'activité antioxydante (**Habibou et al., 2019**).



4.2.Solutions à préparer

- Solution tampon phosphate 0,2M ; pH=6,6
- Solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.
- Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%.
- Solution aqueuse de chlorure ferrique $FeCl_3$ à 0,1%.

4.3.Mode opératoire

1ml de l'extrait à différentes concentrations (1M ; 0,8 M ; 0,6M ; 0,4M ; 0,2) est mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate et 2,5 ml de ferricyanure de potassium, ensuite incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20 min.

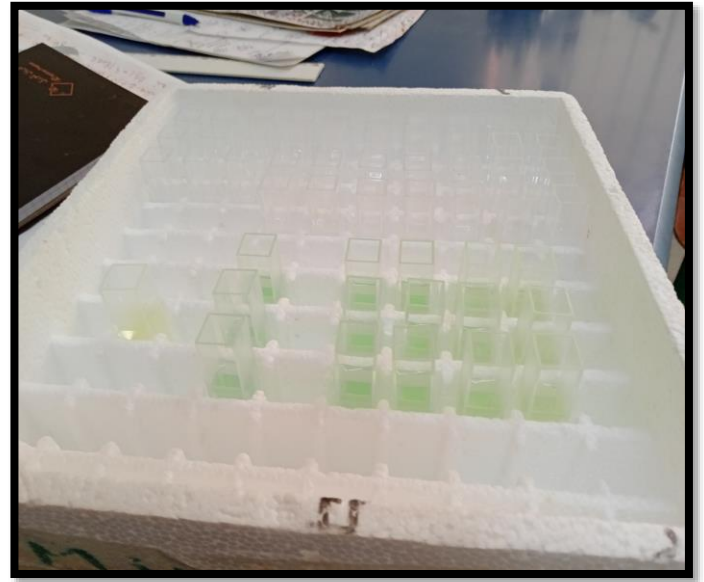
Après l'incubation 2,5 ml d'acide trichloracétique sont ajoutés.

0,5 ml de solution sont mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS avec un blanc préparé semblablement en remplacement l'extrait par l'eau distillée.



A



B



C

Figure 8 : Evaluation de l'activité antioxydante (méthode de FRAP). (A) : Mélange réactionnel avant incubation. (B) : Mélange réactionnel après incubation. (C) : Spectrophotomètre.

4.4. Protocole

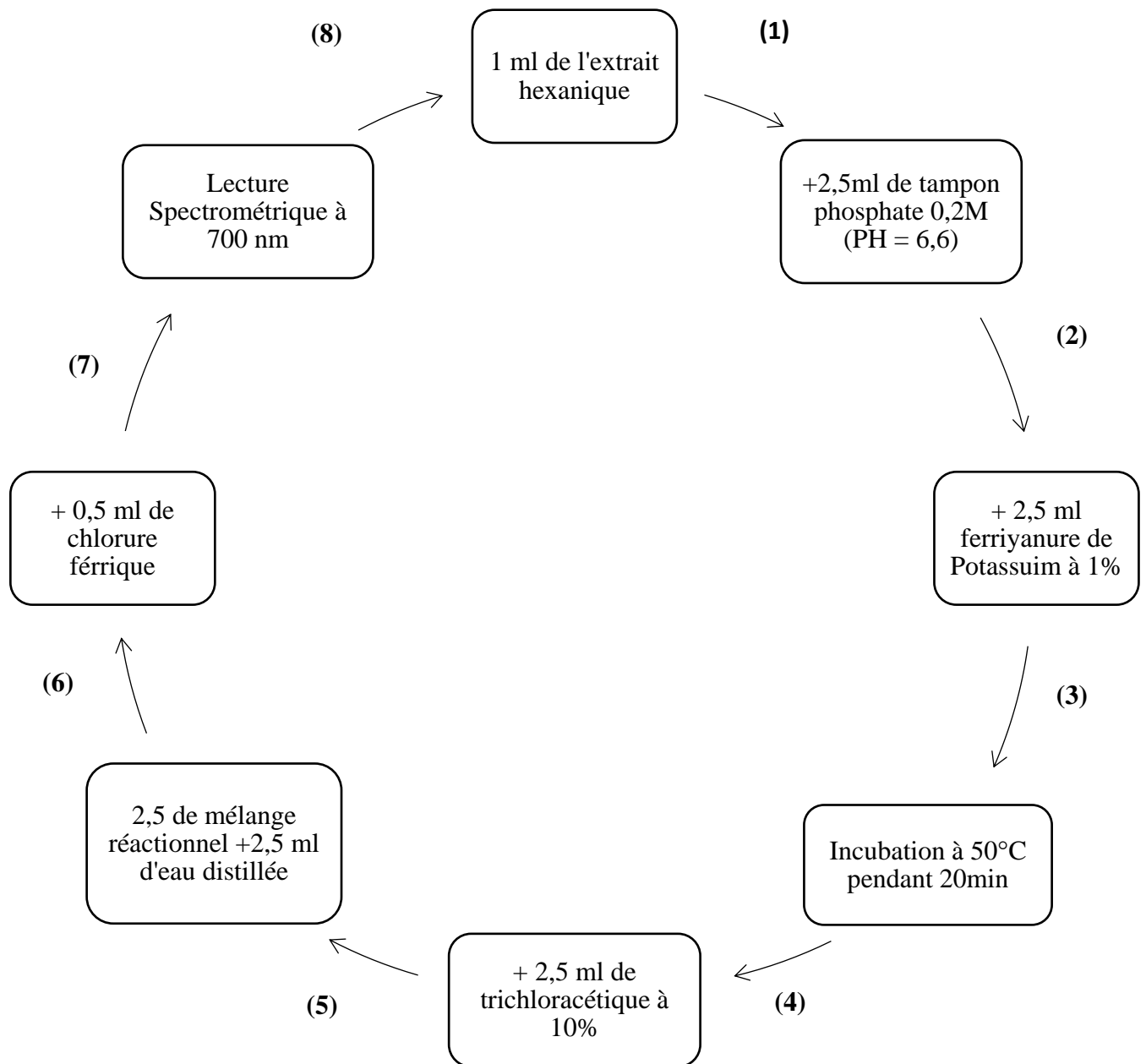


Figure 9 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur de l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus*

5. Evaluation de l'effet hémolytique

Le test de l'effet hémolytique de l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus* a été réalisé *in vitro* sur une suspension érythrocytaire du sang humain, conservée dans un tampon phosphate saline (PBS) à pH=7,4.



Figure 10 : Suspension érythrocytaire

5.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang est prélevé dans un tube héparine à partir d'un donneur sain. Ensuite, il est centrifugé à 3000 rpm durant 10 min. Le plasma (surnageant) est éliminé. Le culot (la suspension érythrocytaire, GRh) est lavé trois (3) fois par le PBS pour être resolubilisé à nouveau par 1 ml de PBS.

5.2. Préparation des extraits

50 mg de l'extrait mélangé avec 8 ml de PBS et 8ml d'éthanol.

5.3. Mode opératoire

Le test d'effet hémolytique de la plante étudiée :

- ✓ Mettre dans tubes à hémolyse la suspension érythrocytaire avec de l'extrait hexanique à différentes concentrations (3,1 M ; 1,55M ; 0,77M ; 0,387M ; 0,193M).
- ✓ Incuber les tubes à 37°C pendant 30 min.

- ✓ Centrifuger les tubes à 3000 rpm pendant 10 min.
- ✓ La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 540nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible contre un blanc contenant de PBS.

En parallèle, un tube contrôle négatif en remplaçant l'extrait avec de l'eau physiologique est préparé. Dans les mêmes conditions, un tube contrôle positif correspondant à 100% d'hémolyse est préparé en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

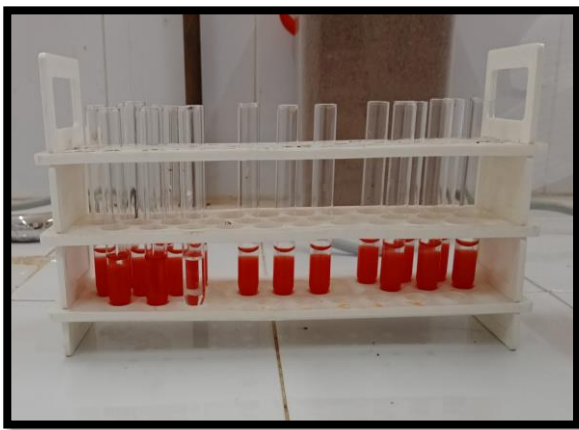
Le pourcentage d'hémolyse a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (A_t - A_e / A_C) \times 100$$

A_C = Absorbance du contrôle.

A_e = Absorbance éthanol + suspension cellulaire.

A_t = Absorbance du test.



A



B



C

Figure 11 : Evaluation de l'effet hémolytique
(A) : Mélange réactionnel avant incubation. (B) : Etuve. (C) : Centrifugeuse.

Résultats et interprétations

1. Extraction

1.1. Aspect et rendement

L'extrait obtenu était d'aspect un peu pâteux et de couleur jaune- orange.

L'extrait hexanique a donné un rendement de 21,06%.



Figure 12 : L'extrait hexanique dans un tube Eppendorf.

2. Evaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP

Dans notre test, l'activité antioxydante de *Thymus ciliatus* se manifeste par un changement de la couleur du milieu réactionnel du jaune en vert.

2.1.Effet de l'extrait hexanique

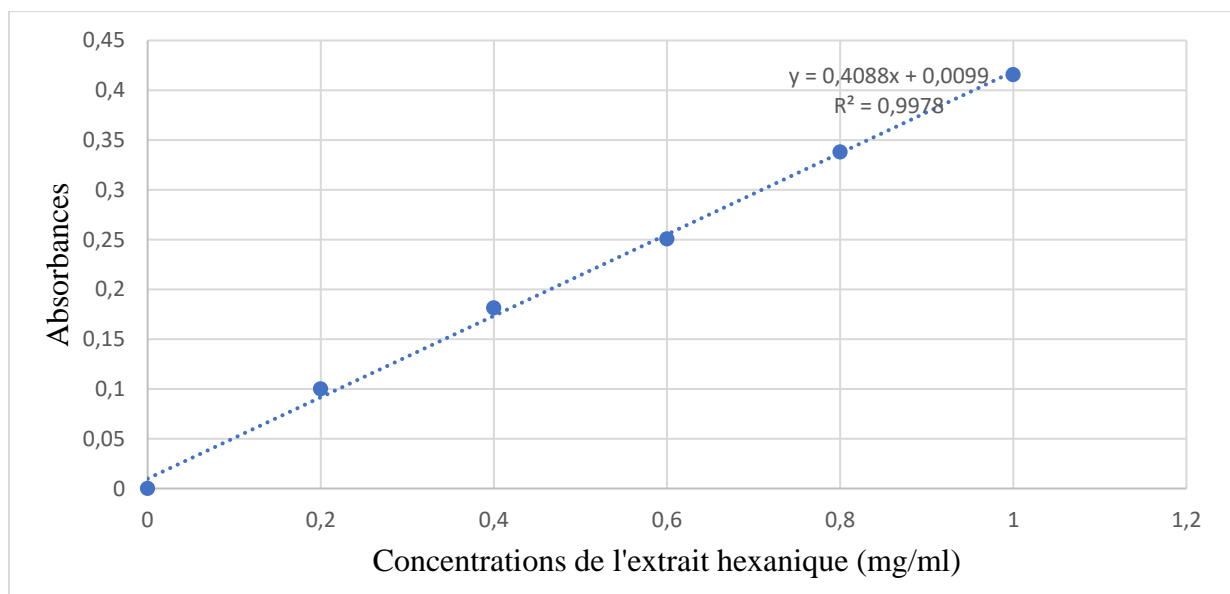


Figure 13 : Courbe représentative du pouvoir antioxydant de l'extrait hexanique.

La figure 13, montre l'évaluation linéaire des absorbances mesurées en fonctions des concentrations ; on déduit que les absorbances sont proportionnelles aux concentrations.

2.2.Effet l'acide ascorbique

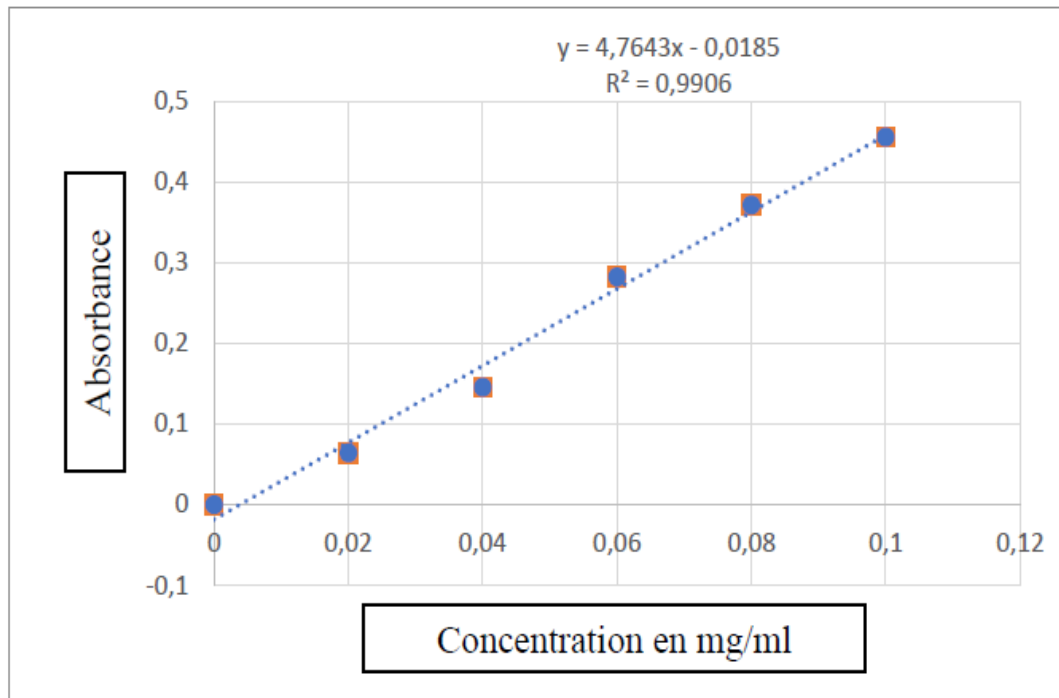


Figure 14 : Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'acide ascorbique de *Thymus ciliatus*.

Dans la figure 14, on remarque qu'elle est semblable à la première courbe (**figure13**)

2.3.Calcul de la concentration efficace 50 (EC₅₀)

C'est la concentration qui correspond à une absorbance de 0,5 à 700 nm. Calculé à partir de l'équation de la droite, les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Les valeurs d'EC₅₀.

Extraits	EC ₅₀ (mg/ml)
Extrait Hexanique	1,19
Acide Ascorbique	0,108

Dans notre étude l'extrait hexanique a une valeur d'EC₅₀ de 1,19mg/ml, on peut dire qu'il est efficace mais l'acide ascorbique reste le plus efficace en pouvoir antioxydant avec une EC₅₀ de 0,108 mg/ml.

3. Evaluation de l'effet hémolytique de l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus*

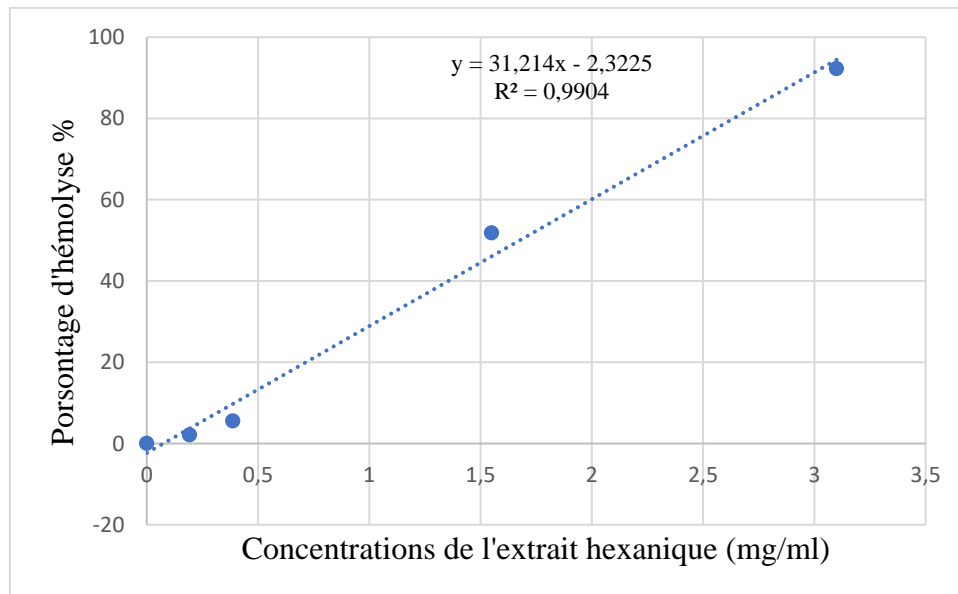


Figure 15 : Courbe représentative de l'effet hémolytique de l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus*

Dans notre étude l'extrait hexanique a une valeur d'EC₅₀ = 1,67 mg/ml.

DISCUSSION

Depuis longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la protection de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité (**Machiex et al., 2005**), le thym fait partie des plantes médicinales utilisé en médecine traditionnelle vu à sa valeur thérapeutique (**Mahmoudi et al., 2013**).

L'objectif de ce travail est porté sur l'évaluation de l'activité antioxydante et l'effet hémolytique de la partie aérienne de *Thymus ciliatus*.

Afin d'évaluer ces effets biologiques, la plante a été soumise à une extraction par infusion dans l'hexane. L'extrait hexanique de *Thymus ciliatus* présente un très bon rendement de l'ordre de 21,06%.

Nos résultats sont hautement supérieurs par rapport à ceux déterminés par **Belhadj (2015)**, L'extraction a été réalisée par hydrodistillation, le rendement en huile essentielle est 3%.

Un rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Thymus ciliatus* de l'ordre de 1,2% dans une étude de **Amarti et al. (2010)**.

L'activité antioxydante a été mise en évidence par la méthode de FRAP. Selon les résultats obtenus, l'extrait hexanique possède une bonne activité antioxydante avec une EC_{50} de 1,19 mg/ml ; mais l'acide ascorbique reste toujours le composé le plus réducteur avec une EC_{50} de 0,108 mg/ml.

Les résultats obtenus dans une étude de **Souadia (2022)** sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* d'Algérie par la méthode de FRAP montrent que l'HE possède une activité antioxydante avec une IC_{50} de 3,88mg/ml.

Kholkhal et al. (2013), ont étudié l'activité antioxydante de *Thymus ciliatus* par la méthode de FRAP. La fraction d'acétate d'éthyle de la partie aérienne de la plante présente une capacité à réduire le Fer plus marquée à celle de l'acide ascorbique. Cependant la fraction butanoliques de la partie aérienne et des racines, possède une capacité largement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Goudjil et al. (2019), ont évalué l'activité antioxydante de HE de *Thymus capitatus* par la méthode de FRAP, la valeur EC_{50} est $2,13 \pm 0,07$.

D'après **Lagouri et Nisteropoulon (2009)**, l'extrait méthanolique et l'extrait acétonique de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* présentent une activité antioxydante avec des EC_{50} de 0,016 g/l et 0,031 g/l, respectivement.

L'extrait hexanique du *T. ciliatus* présente un effet hémolytique de 50% à une EC_{50} de 1,67 mg/ml.

Priya et al., (2010) ont montré que *Achyranthes asera* a une très faible activité hémolytique vis-à-vis des érythrocytes humains.

Kalita et al. (2011) montrent que l'extrait aqueux de *Lantana canara* et ses différentes fractions possèdent une activité modérée.

L'étude de **Hadj Abdel Kader (2020)** montre que l'extrait hexanique de la partie aérienne de *Hyscayamus niger* est plus hémolytique 7,19 % à 1mg/ml, que l'extrait eau-acétone de 5,87% à 1mg/ml.

Belhadj (2015) a testé l'effet hémolytique de l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* par graduation de concentration, elle a enregistré un taux d'hémolyse atteint 50% à une concentration de 0,0037 μ g/ml.

Finalement, nous constatons que la partie aérienne de *Thymus ciliatus* a une activité antioxydante remarquable et importante, qui peut être due à la présence de différentes molécules dans l'extrait testé. Cette plante peut être considérée comme une source pour le développement de médicaments efficaces. Ce travail est encore préliminaire et mérite d'être reproduit par d'autres techniques.

Conclusion générale

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité biologique (activité antioxydante et l'effet hémolytique) de l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus*, une plante de la famille des lamiacées, par la méthode de réduction du fer FRAP concernant l'activité antioxydante et l'évaluation de l'effet toxique de l'extrait sur les cellules de l'organisme humain.

Thymus ciliatus, présente un très bon rendement en extrait hexanique de l'ordre de 21,06%.

Les résultats de l'activité antioxydante par la méthode de réduction de fer FRAP, montrent que l'extrait hexanique possède une capacité à réduire le fer qui augmente avec la concentration.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus* exerce un effet antioxydant important avec une EC_{50} de 1.19 mg/ml, mais cette activité reste toujours inférieure à celle de la molécule de référence (acide ascorbique) avec une EC_{50} = 0,108 mg/ml.

Concernant l'effet hémolytique, l'extrait hexanique de *Thymus ciliatus* présente un effet hémolytique de 50% à une EC_{50} de 1,67 mg/ml.

Cette étude nécessite une poursuite par des nouvelles approches et mérite d'être approfondi par d'autres recherches qui s'intéressent à :

- 1) L'utilisation d'autres méthodes d'extraction : macération, décoction...
- 2) Réalisation d'autres techniques d'évaluation de l'activité antioxydante ; tel que : DPPH, ORAC (oxygène radical absorbance capacité).
- 3) L'évaluation d'autres activités biologiques : activité anti bactérienne, activité antifongique, activité antidiabétique...

Références bibliographiques

(A)

- Afzal, M., Afzal, A., Jones, A., & Armstrong, D. (2002).** A rapid method for the quantification of GSH and GSSG in biological samples. In *Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols* (pp. 117-122): Springer.
- Ailloud, F., Prior, P., & Moulin, L. (2012).** Génomique comparative et spectre d'hôte chez *Ralstonia solanacearum* phylotype II.
- Ali, D., Sacchetto, É., Dumontet, E., Le Carrer, D., Orsonneau, J.-L., Delaroche, O., & Bigot-Corbel, E. (2014).** Interférence de l'hémolyse sur le dosage de vingt-deux paramètres biochimiques. Paper presented at the *Annales de biologie clinique*.
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., . . . Chaouch, A. J. A. b. g. (2011).** Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *158*(4), 513-523.
- Aouina, M., & Sarra, L. (2019).** Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila,

(B)

- Babulka, P. J. P. (2007).** Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales: de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *5*(3), 137-145.
- Beaumont, C., & Canonne-Hergaux, F. J. T. c. e. b. j. d. l. S. f. d. t. s. (2005).** Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions; regulation by hepcidin. *12*(2), 123-130.
- Belaïch, R., & Boujraf, S. J. M. d. m. M. (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés: effets et stratégies thérapeutiques. *10*(1), 38-42.
- Belhadj, H. (2015).** Activités antioxydantes et l'effet hémolytique des huiles essentielles de *Thymus ciliatus* ssp-euciliatus et d'*Ammoïdes Verticillata*. Mémoire de Master Alimentation et nutrition Univ. Tlemcen : (111).
- Benabid, A. (2000).** Flore et écosystèmes du Maroc: Evaluation et préservation de la biodiversité.
- Benayad, N. J. P. d. t. d. D. d. l. U. M. V. A. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. 61.

Bernard, T., Perineau, F., Bravo, R., Delmas, M., & Gaset, A. J. I. c. (1988). Extraction des huiles essentielles: chimie et technologie. (298), 179-184.

(C)

Choudhury, R. P., Kumar, A., Garg, A. J. J. o. P., & Analysis, B. (2006). Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. 41(3), 825-832.

Cock, I. E. J. E., Encyclopedia of Life Support Systems. (2011). Medicinal and aromatic plants–Australia.

(D)

D'Ariane, F.(2009). Évaluation préalable pour le Défi concernant le n-Hexane.

Decaux, I. J. L. B. P. (2002). Phytothérapie: mode d'emploi. 6-7.

Delattre, J., Beaudeau, J.-L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant(aspects biologiques et pathologiques).

Diaconu, C. J. A. B. M. U. (2019). Oxidative stress and heart failure. 54(2), 219-221.

Djerroumi, A., & Nacef, M. (2013). 100 Plantes médicinales d'Algérie: Ed. Houma.

Dobignard, A., Chatelain, C., Fischer, M., Orso, J., & Jeanmonod, D. (2010). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord: Conservatoire et Jardin botaniques.

(E)

Economou, K., Oreopoulou, V., & Thomopoulos, C. J. J. o. t. A. O. C. S. (1991). Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. 68(2), 109-113.

El Hilah Fatima, F. B. A., Dahmani, J., Belahbib, N., Zidane, L. J. J. o. A., & Sciences, P. (2015). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections du système respiratoire dans le plateau central marocain. 25(2), 3886-3897.

Elhabazi, K., Dicko, A., Desor, F., Dalal, A., Younos, C., & Soulimani, R. J. J. o. e. (2006). Preliminary study on immunological and behavioural effects of *Thymus broussonetii* Boiss., an endemic species in Morocco. 103(3), 413-419.

Evans, P., & Halliwell, B. J. A. o. t. N. Y. A. o. S. (1999). Free radicals and hearing: cause, consequence, and criteria. 884(1), 19-40.

(F)

Favier, A. J. L. a. c. (2003). Le stress oxydant. 108(10), 863-832.

Fine, F., Vian, M. A., Tixier, A.-S. F., Carre, P., Pages, X., & Chemat, F. J. O. (2013).
Les agro-solvants pour l'extraction des huiles végétales issues de graines oléagineuses.
20(5), A502.

(G)

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. J. F. c. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. 102(3), 898-904.

Galvin, J. (1997). Toxicity data for commercial hexane and hexane isomers. In: Technology and solvents for extracting oilseeds and nonpetroleum oils

Gerard, B., Ryan, J., Beeler, A. B., & Porco Jr, J. A. J. T. (2006). Synthesis of 1, 4, 5-trisubstituted-1, 2, 3-triazoles by copper-catalyzed cycloaddition-coupling of azides and terminal alkynes. 62(26), 6405-6411.

Gherman, C., Culea, M., & Cozar, O. J. T. (2000). Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. 53(1), 253-262.

Goudjil, M. B., Zighmi, S., Hamada, D., Mahcene, Z., Bencheikh, S. E., & Ladjel, S. J. S. A. J. o. B. (2020). Biological activities of essential oils extracted from *Thymus capitatus* (Lamiaceae). 128, 274-282.

Guenther, E. (2014). The essential oils-Vol 1: History-origin in plants-production-analysis: Read Books Ltd.

Guillon, C., Garçon, L., Cynober, T., Gauthier, F., Tchernia, G., Delaunay, J., Bader-Meunier, B. J. A. d. p. (2008). Sphérocytose héréditaire: recommandations pour le diagnostic et la prise en charge chez l'enfant. 15(9), 1464-1473.

(H)

Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P., & Benjamin, O. (2019). Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr.

- Hadj Abdelkader, F et Chouachi, S. (2020).** Etude de l'activité antioxydante et anti-hémolytique des extraits de *Hyoscyamus niger*. Mémoire de Master Toxicologie Industrielle et Environnementale. Univ. Tlemcen : (49).
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. J. R. m. d. L. (2007).** Le stress oxydant. 62(10), 628-638.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015).** Free radicals in biology and medicine: Oxford university press, USA.
- Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., & Aitour, S. J. L. S. J. (2006).** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. 7(2), 13-22.
- Hoffman, R. M. J. S. (2008).** Imaging in mice with fluorescent proteins: from macro to subcellular. 8(2), 1157-1173.

(I)

- Iserin, P., Masson, M., & Restellini, J.-P. (2007).** Encyclopédie des plantes médicinales: Larousse.
- Ismaili, H., Tortora, S., Sosa, S., Fkih-Tetouani, S., Ildrissi, A., Loggia, R. D., Pharmacology. (2001).** Topical anti-inflammatory activity of *Thymus wilddenowii*. 53(12), 1645-1652.

(K)

- Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Ait-Kaki, Z., & Benlabeled, K. J. I. J. o. A. (2005).** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. 15(3), 129-133.
- Kaiser, S., Di Mascio, P., Murphy, M. E., Sies, H. J. A. o. B., & Biophysics. (1990).** Physical and chemical scavenging of singlet molecular oxygen by tocopherols. 277(1), 101-108.
- Kalaiselvi, V., & Vidhya, R. J. W. J. P. R. (2015).** In-vitro membrane stabilizing activity of different extracts of *Bahinia tomentosa* (L.) leaves. 4(4), 1700-1715.
- Kalam, S., Gul, M. Z., Singh, R., & Ankati, S. J. P. (2015).** Free radicals: Implications in etiology of chronic diseases and their amelioration through nutraceuticals. 6(1), 11-20.
- Kalemba, D., & Kunicka, A. J. C. m. c. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. 10(10), 813-829.

- Kalita, S., Kumar, G., Karthik, L., & Rao, K. V. B. J. P. (2011).** Phytochemical composition and in vitro hemolytic activity of *Lantana camara* L.(Verbenaceae) leaves. 1, 59-67.
- Kholkhal, F., Lazouni, H. A., Bendahou, M., Boublenza, I., Chabane, S. D., & Chaouch, T. J. A. S. R. I. d. S. e. T. (2013).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus ciliatus* ssp. *Coloratus*. 9(1), 151-158.
- Koechlin-Ramonatxo, C. J. N. c. e. m. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. 20(4), 165-177.
- Kunkele, U., & Lobmeyer, T. J. E. P. p. (2007).** Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois.

(L)

- Lagouri, V., & Nisteropoulou, E. J. J. o. f. L. (2009).** Antioxidant properties of *O. onites*, *T. vulgaris* and *O. basilicum* species grown in Greece and their total phenol and rosmarinic acid content. 16(4), 484-498.
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. J. F. C. (2011).** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. 125(2), 288-306.
- Lide, D. J. C. P. (1997). 1998. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 78th edit. 6(4), 6-5.
- Lippi, G., Franchini, M., & Targher, G. J. N. R. C. (2011).** Arterial thrombus formation in cardiovascular disease. 8(9), 502-512.
- Łuczaj, W., Gęgotek, A., Skrzydlewska, E. J. F. R. B., & Medicine. (2017).** Antioxidants and HNE in redox homeostasis. 111, 87-101.

(M)

- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique: PPUR presses polytechniques.
- Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. J. N., & Technology. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). (9), 35.

- Manaargadoo-Catin, M., Ali-Cherif, A., Pognas, J.-L., Perrin, C. J. A. i. C., & Science, I. (2016).** Hemolysis by surfactants—A review. 228, 1-16.
- Marchand, A., Galen, R. S., & Van Lente, F. J. J. (1980).** The predictive value of serum haptoglobin in hemolytic disease. 243(19), 1909-1911.
- Marieb, E. N. (2009).** Essentials of human anatomy & physiology (9th ed.). In: San Francisco (CA), Pearson/Benjamin Cummings.
- Marouf, A. (2000).** Dictionnaire de botanique.
- Mauris, A., Doumbo, O., Breslow, N., Robert, C.-F., Bouvier P., Picquet, M., hygiene. (1997).** Seasonality, malaria, and impact of prophylaxis in a West African village I. Effect of anemia in pregnancy. 56(4), 378-383.
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. J. C. b. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. 32(8), 595-603.
- McCall, M. R., Frei, B. J. F. R. B., & Medicine. (1999).** Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans, 26(7-8), 1034-1053.
- Mercan, D. J. A., Lausanne, Unilabs. (2010).** Le stress oxydatif.
- Mezzou, H., Khelifa, A. B., Neffati, F., Douki, W., Amor, A. B., & Najjar, M. F. J. R. F. d. L. (2006).** Détermination de l'hémoglobine plasmatique et évaluation spectrophotométrique de l'hémolyse en biochimie clinique. 2006(386), 59-64.
- Miller, R. E., McConville, M. J., & Woodrow, I. E. J. P. (2006).** Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae). 67(1), 43-51.
- Mintzer, D. M., Billet, S. N., & Chmielewski, L. J. A. i. h. (2009).** Drug-induced hematologic syndromes. 2009.
- Mohandas, N., & Gallagher, P. G. J. B., The Journal of the American Society of Hematology. (2008).** Red cell membrane: past, present, and future. 112(10), 3939-3948.
- Morales, R. J. T. t. g. T. (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. 1, 1-43.

(N)

- Nakajima, K., Nakano, T., & Tanaka, A. J. C. C. A. (2006).** The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. 367(1-2), 36-47.

Neffati, M., & Sghaier, M. J. O. d. S. e. d. S. T., Tunisia. (2014). Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie).

(O)

O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P., & Budavari, S. J. I. (2001). The merck index-An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. whitehouse station, NJ: Merck and Co. 767, 4342.

Organization, W. H. (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Retrieved from

Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T. N., & Khelifi, D. J. J. o. E. (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). 194, 196-218.

(P)

Pariante, L. J. è. E. (2001). Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique.

Passet, J. (1979). La variabilité chimique chez le thym, ses manifestations, sa signification.

Petkov, V. J. T. A. J. o. C. M. (1979). Plants with hypotensive, antiatheromatous and coronarodilatating action. 7(03), 197-236.

Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. J. I. j. o. b. s. I. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. 4(2), 89.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. J. I. j. o. c. b. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. 30(1), 11-26.

Pisoschi, A. M., & Pop, A. J. E. j. o. m. c. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. 97, 55-74.

Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C. J., & Valko, M. J. T. i. p. s. (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. 38(7), 592-607.

Priya, C. L., Kumar, G., Karthik, L., & Rao, K. V. B. J. P. (2010). Antioxidant activity of *Achyranthes aspera* Linn stem extracts. 2(2), 228-237.

(Q)

- Quail, M., Grunseich, K., Baldassarre, L. A., Mojibian, H., Marieb, M. A., Cornfeld, D., . . . Peters, D. C. J. J. o. C. M. R. (2019).** Prognostic and functional implications of left atrial late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance. 21(1), 1-12.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

(R)

- Retsky, K. L., Chen, K., Zeind, J., Frei, B. J. F. R. B., & Medicine. (1999).** Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. 26(1-2), 90-98.
- Rezaire, A. (2012).** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Antilles-Guyane,
- Rota, M. C., Herrera, A., & Mart, R. J. F. C. inez, JA Sotomayor, and MJ Jordán. 2008.** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. 19(7), 681-687.

(S)

- Sahi, L. (2016).** La dynamique des plantes aromatiques et médicinales en Algérie [Troisième partie]. In: CIHEAM-IAMM.
- Sayre, L. M., Smith, M. A., & Perry, G. J. C. m. c. (2001).** Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. 8(7), 721-738.
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., & Rice-Evans, C. J. N. o. a. (2002).** MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. 23(5), 861-880.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. J. J. o. b. (2012).** Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. 2012.

- Sofowora, A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique: KARTHALA Editions.
- Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., & LLeonart, M. E. J. A. r. r. (2013).** Oxidative stress and cancer: an overview. 12(1), 376-390.
- Souadia, A. J. N. P. C. (2022).** Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Essential Oils of Algeria. 17(2), 1934578X221080337.
- Souri, E., Amin, G., Dehmobed-Sharifabadi, A., Nazifi, A., & Farsam, H. J. I. J. o. P. R. (2010).** Antioxidative activity of sixty plants from Iran. (1), 55-59.

(T)

- Ternes, W., Gronemeyer, M., & Schwarz, K. J. Z. f. L.-U. u. F. (1995).** Determination of p-cymene-2, 3-diol, thymol, and carvacrol in different foodstuffs. 201(6), 544-547.
- Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. J. I. j. o. m. s. (2014).** Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. 16(1), 193-217.
- Thomas, L. (2013).** Haemolysis as influence and interference factor. eJIFCC vol 13 no 4. In.
- Töpfer, G., Funke, U., Schulze, M., Lutze, G., Ziemer, S., Siegert, G., & Frick, U. J. L. J. o. L. M. (2000).** Präanalytische Probleme bei Gerinnungsuntersuchungen im venösen Citratblut, Katheterblut und Kapillarblut. Determination of Coagulation Parameters in Citrated Venous Blood, Catheter Blood, and Capillary Blood: Preanalytical Problems. 24(11), 514-520.
- Turrens, J. F. J. T. J. o. p. (2003).** Mitochondrial formation of reactive oxygen species. 552(2), 335-344.

(V)

- Vacheron, S., & Vacheron, S. (2010).** la phyto-aromathérapie à l'officine. In: Paris.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. J. C.-b. i. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. 160(1), 1-40.
- Vansant, G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants: principes de base. Paper presented at the Symposium «Antioxydants et alimentation». Institut Danone.

(W)

Weidinger, A., & Kozlov, A. V. J. B. (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. 5(2), 472-484.

Wilson, G. T. J. E. E. D. R. (2010). Eating disorders, obesity and addiction. 18(5), 341-351.

Wojtala, A., Bonora, M., Malinska, D., Pinton, P., Duszynski, J., & Wieckowski, M. R. (2014). Methods to monitor ROS production by fluorescence microscopy and fluorometry. In *Methods in enzymology* (Vol. 542, pp. 243-262): Elsevier.

(Z)

Zendecki, M. (2006). Hématologie biologique. Faculté de Médecine. CHU-49000 Agers France. 8(1).

Annexes

HEXANE

Généralité :

- ✚ **Synonymes** : N-Hexan, N-hexane, N-esano, n-hexan...
- ✚ **Apparence** : Liquide incolore, Volatile ayant une odeur d'hydrocarbure
- ✚ **Propriétés chimiques** : (D'Ariane, 2009).
 - Formule brute : $C_6 H_{14}$
 - Famille chimique : solvant pétroliers (apolaire) (Mouloungui *et al.*, 2006).
 - Moment dipolaire : 0,09D
- ✚ **Propriétés physiques** :
 - T° ébullition : 68,73°C
 - T° Fusion : -95,3°C (Lide, 1997).
 - T° Auto-inflammation : 225°C
 - Solubilité : 9,5mg.l⁻¹ (Eau :25°C)

Solubilité dans d'autres solvants : Très soluble dans l'éthanol, l'éther éthylique et le chloroforme Soluble dans l'alcool, l'acétone et l'éther Miscible avec l'alcool, le chloroforme et l'éther. (O'Neil, 2001).
- ✚ **Usage** : solvant d'extraction des huiles végétales, fabrication des produits pharmaceutiques et d'autre produits chimiques organiques de base, agent dénaturant pour l'alcool et constituant du carburants et solvants pétroliers.
- ✚ **Toxicité** : Toxique sur le système nerveux centrale et trouble de fertilité, (Galvin, 1997), nocif (XN), Facilement inflammable (F), Irritant (XI), Dangereux pour l'environnement (N), Reprotoxique de catégorie 3.

