

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biochimie Appliquée

Département : Biologie

Thème

Effet protecteur de la marjolaine (*Origanum majorana*) contre la néphrotoxicité induite par le bisphénol A

Présenté par :

1. Boucetta Halima
2. Brahmia Bouthaina
3. Lamouri Rayane
4. Naamane Sofia

Devant la commission composée de :

Président : MERABET R M.A.A Université de Guelma

Examinatrice : ABDAOUI W M.C.B Université de Guelma

Encadreur : AYED H M.C.B Université de Guelma

Juin 2022

Remerciement

*En tout premier lieu, nous remercions le bon **Dieu**, le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la force pour continuer, ainsi que le courage pour dépasser toutes les difficultés.*

*Notre plus grande gratitude va à notre encadreur **Mme AYED.H**, pour sa grande disponibilité et pour la confiance qu'il nous a accordé tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour sa patience, sa gentillesse, et son esprit responsable, critique et rigoureux. Nous le remercions pour ses connaissances dont il nous a fait bénéficier.*

On voudra remercier tous les membres du jury qui vont juger ce modeste travail et nous ont faits profiter de leurs connaissances et remarques constructives

***Mme Abdaoui W** qui nous a fait l'honneur de présider le jury. Veuillez accepter l'expression de notre sincère reconnaissance, **Mme Merabet R** qui a spontanément eu la volonté et l'honneur d'examiner ce travail. Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude pour le temps précieux que vous consacrer pour juger ce travail. Leurs critiques et commentaires seront bénéfiques pour enrichir nos connaissances dans ce domaine.*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à **Mme Merabet R** pour son aide pratique et son soutien moral ainsi que pour ses judicieux conseils.*

*Un grand remerciement à **Mme Hamdikan M** et Leur étudiants **Heithem, Raid et Nardjess**.*

*Nous tenons à remercier **Mme Ratiba** technicienne de laboratoire et **Mr Mehdi** technicien de l'animalerie, pour nous aider à compléter nos recherches en fournissant tous les matériels nécessaires.*

Nos profonds sincères remerciements pour tous les enseignants de départeme « Biologie »

Un Merci spécial pour nos collègues et amis, et à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Merci

Dédicace

En premier, je remercie ALLAH , le tout puissant de m'avoir accordé la force ,le courage et les moyens pour la réalisation de ce travail.

A mes « chers parents », pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, Merci d'être toujours là pour moi.

A ma sœur et mon frère : « marwa », « kheireddine » pour leurs encouragements permanents, je souhaite un avenir radiant plein de réussite, Que dieu vous protège.

A ma belle-sœur « roukia » et mes aimables cousins et cousines que j'aime profondément surtout mes anges « amani » et « hadil ».

A mon neveu : « Abdou ».

A toutes mes copines surtout « oumaïma », « ines » et « Randa » Merci pour tous ces agréables moments passés ensemble, je vous aime énormément.

Je dédie mes sincères sentiments d'amour et d'amitié à mes binômes «rayane», «sofia», et « halima » pour sa persévérance, sa positive énergie ainsi que sa volonté, pour tous les bons moments qu'on a Vécu. Ensemble nous avons pu surmonter pleins d'obstacles Merci.

Et au final à tous ceux qui me sont chers, et à toutes personnes qui m'ont aidé de Près ou de loin.

Merci...

« Bouthaina »

Dédicaces

Merci ALLAH...

Je dédie ce travail Aux êtres les plus chers : Mes parents

A Mon père

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mes Cher frères :

Pour vous exprimer toute Mon affection et ma tendresse

A ma sœur : Rama

A Mon Cher mari,

Qui chaque jour, par sa compréhension, sa sollicitude, sa tendresse et ses critiques a soutenu mes efforts et fait avancer cette étude. Ce travail existe grâce à ses encouragements. En témoignage de tout mon amour

A mes collègues : Rayane Sofia et Bouthaina

HALIMA

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail d'abord :

A mes Chères Parents, sans qui, je n'en serais pas là aujourd'hui. Merci pour tout leur amour et leur soutien depuis toujours. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. Qu'ils trouvent dans la réalisation de ce travail, la conséquence de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude

Avec toute ma reconnaissance et mon amour, je les remercie d'avoir cru en moi jusqu'au bout.

J'espère qu'ils tireront la plus grande fierté du fruit de mes peines et mes efforts.

Mes frères Malik et Amine, et ma sœur Rima

Pour leur amour inconditionnel.

A ma nièce : Layane Aline

A mon cher Loulou

Pour sa patience et son soutien, je lui dédie cette mémoire.

Norhene et Houda

Qui étaient toujours à mes côtés, qui m'ont donné courage, confiance et sécurité.

Mes chères amies halima rayane et bouthaina

Pour leur encouragement, leur soutien et leur affection

je lui dédie cette mémoire

A ma grande famille mes chères tantes, mes oncles, mes cousins et cousines.

Je vous Remercie tous qui m'aiment

Sofia

Dédicaces

Avant tout, nous remercions « ALLAH » le tJe dédie puissant pour nous avoir donné la force et la patience pour mener à terme ce travail Allhamdoulilah.

Je me remercie beaucoup d'abord pour mes capacités.

Je dédie cet événement marquant de ma vie à :

Ma mère fait partie de mon âme qui a contribué à ce succès et était avec moi pas par pas ma chère mère. « YAMINA LAMOURI ».

Mon père est mon soutien dans cette vie, je vous dédie ce succès que tu gardes la tête haute fière de moi. « EL YAMIN LAMOURI »

Mon frère « NASSER EDDINE » et « SALAH EDDINE » les deux ma source d'énergie qui m'a toujours encouragé d'avancer et me pousse de faire mieux.

Ma petite sœur « INES » la lumière de ma vie.

Mon amie, sœur et la meilleure de tous les temps. Je souhaite à Dieu bonne chance et succès dans votre vie. Merci encore de t'avoir dans ma vie « KHOULOU BENCHABANE » et « ILHAM MAZAACHE ».

Sans oublier meilleures trinômes « HALIMA, BOUTHAINA et Sofia »

La famille LAMOURI en générale honorée de ce nom, MES TANTES ET COUSINES, RANIM, OULFA LAYAL, FIDA, AMINA, ABIR, IKRAM, ROUMAÏSSA, SAMIRA.

A tous mes amies « JOUHAINA, DJOUMANA, RANIA, IBTISSEM, RAYAN, MARWA, MANAL, KHAWLA, DOUNIA AMANI, HAWA ».

RAYANE

Table des matières

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste d'abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
Première partie : Synthèse bibliographique	
CHAPITRE N° 1 : GÉNÉRALITÉ SUR LES PLANTES MÉDICINALES	
1. Phytothérapie	02
1. Définition	02
2. Plantes médicinales	03
1. Principes actifs des plantes	03
2. Différentes des principes actifs	03
1. Coumarines	03
2. Flavonoïdes	04
3. Alcaloïdes	04
4. Tanins	04
5. Saponines	05
6. Anthocynes	05
7. Glucosides (hétérosides)	05
8. Vitamines	05
3. Préparation des plantes médicinales	06
4. Toxicité des plantes médicinales	06
CHAPITRE N° 2 : PRÉSENTATION DE LA PLANTE ÉTUDIÉE	
1. Famille de lamiacée	07
1. Caractères généraux de lamiacées	07
2. <i>L'origanum</i>	07
1. Position systématique	07
2. Description botanique de genre <i>origanum</i>	08
3. <i>Marjolaine</i>	09
1. Définition	09
2. Nomenclature	09
3. Repartition	10
4. Description botanique de la marjolaine	10
5. Activites biologique d' <i>origanum majorana</i>	11
1. Activité antioxydant	11
2. Activité antibactérienne	12
3. Activité antidiabétique	12
4. Activité antifongique	12
5. Anti-inflammatoire	12
CHAPITRE N° 3 : STRESS OXYDANT	
1. Stress oxydant	13
1.1 Définition	13
1. Origine du stress oxydant	13

1.2.1 Radicaux libres	13
1.2.1.1. Définition	13
1. Types des radicaux libres	13
1. Espèces réactives de l'oxygène(ERO)	13
2. Espèces réactives de l'azote(ERN)	13
3. Espèces réactives de l'oxygène(ROS)	14
2. Antioxydants	15
1. Types des antioxydants	15
1. Antioxydants enzymatique	15
1. Superoxydesdismutases (SOD)	15
2. Catalase (CAT)	15
3. Glutathion peroxydase (GPx)	15
4. Glutathion réductase	15
1. Antioxydants non enzymatiques	16
1. Zinc	16
2. Sélénium	16
3. Vitamine C	16
4. Vitamine E	16
5. Polyphénols	17
6. Glutathion	17
1. Antioxydants synthétiques	17

CHAPITRE N° 4 : BISPHÉNOL A ET NEPHROTOXICITE

1. Bisphénol A	19
1. Définition	19
2. Propriété physicochimique de BPA	19
3. Toxicité de BPA	20
1. Toxicité aiguë	20
2. Toxicité chronique	20
4. Effets de bisphénol A	21
1. Effet génotoxique	21
2. Effet sur système immunitaire	21
3. Effet sur la fonction thyroïde	21
4. Effet cancérogène	21
5. Effet sur reproduction	21
5. Métabolisme du BPA	22
6. Elimination du BPA	24
7. Mode d'action du BPA dans l'organisme	25
2. Néphrotoxicité	27
1. Définition	27
2. Insuffisance rénal aiguë	27
3. Insuffisance rénal chronique	27

Deuxième partie : Partie expérimentale

CHAPITRE N° 1 : MATÉRIEL ET MÉTHODES D'ANALYSE

I. Matériel et méthodes d'analyse	28
I.1 Matériel	28
I.2 Criblage phytochimique	28
I. 2.1. Mise en évidence des flavonoïdes	28
I.2.2. Mise en évidence des saponosides	28
I.2.3. Mise en évidence des tanins	29

I.2.3.1. Tanins catéchiques	29
I.2.3.2. Tanins galliques : réaction de stiasny	29
I.2.4. Mise en évidence des mucilages	29
I.2.5. Mise en évidence des coumarines	29
I.2.6. Mise en évidence des glycosides	30
I.2.7. Mise en évidence des alcaloïdes	30
I.3. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique	30
I.4. Traitement des rats	31
I.5. Sacrifice des animaux et prélèvement de l'organe (rein)	31
I.6. Préparation de l'homogénat	32
I.7. Détermination des paramètres du stress oxydatif (GSH et MDA)	32
I.7.1 Dosage des protéines totales tissulaires	32
I.7.1.1 Principe	32
I.7.1.2 Préparation de la solution du réactif de Bradford	33
I.7.1.3 Calcul de la concentration des protéines	33
I.7.2. Dosage du MDA cytosolique	33
I.7.3 Dosage du glutathion réduit (GSH)	34
I.7.3.1 Principe	34
I.7.3.2 Procédure expérimentale	35
CHAPITRE 02 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	
1. Résultats	36
1. Screening phytochimique	36
2. Détermination des paramètres	37
Effet l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine et le BPA sur la fonction rénale.	37
2. Discussion	39
CONCLUSION	41
Résumé	
Liste des références	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales caractéristiques physicochimiques du BPA et leurs conséquences physiologiques.	19
Tableau 02 : Criblage phytochimique d' <i>Origanum Majorana</i>	36
Tableau 03 : Effets de l'extrait hydro-méthanolique et du BPA et leur combinaison sur la fonction rénale.	37

Liste des figures

Figure 01 : Importance des plantes médicinales selon le mode préparation	06
Figure 02 : Aspect morphologique d' <i>Origanum majorana</i>	09
Figure03 : Aire de distribution du genre <i>Origanum</i>	10
Figure04 : Parties aériennes d' <i>Origanum majorana L.</i>	11
Figure05 : Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques,	18
Figure 06 : Réaction de condensation en catalyse acide du BPA	19
Figure07 : Voies métaboliques majeures du BPA chez les Mammifères	23
Figure08 : Structures chimiques de l'œstradiol (E2), du diéthylbestrol (DES) et du bisphénol A (BPA)	26
Figure09 : Etapes de la macération	30
Figure10 : Dissection et prélèvement des organes (reins)	32
Figure11 : Principe du dosage de malondialdéhyde	34
Figure12 : Principe du dosage de glutathion réduit	35
Figure 13 : Variations des concentrations des protéines totales tissulaires	37
Figure14 : Variations des concentrations de MDA apres traitement des rats par le BPA et 38 lextrait hydro méthanolique de la marjolaine.	
Figure 15 : Variations des concentrations de GSH après traitement des rats par le BPA et 38 par l'extrait hydro méthanolique de la marjolaine.	

Abbreviation

(COX₂): Cyclooxygénase 2

AhR: Aryl hydrocarbon receptor

AR: Androgenereceptor

BHA: Le butylhydroxyanisole

BHT: Le butylhydroxytoluène

BPA: Bisphénol A

BPA-G: Bisphénol-glucuronide

BPA-S: Bisphénol-sulfate

BSA: albumine seriqueBavin

DES: Diethylstilbestrol

DFG : Débit de filtration glomérulaire.

DJT : La dose journalière tolérable

DTNB : Dcide 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou reactif d'Ellman

E2 : œstradiol 17 β

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ERRγ : Estrogen-relatedreceptor gamma

Era: Estrogen recpter alpha

ERβ: Estrogen recpter beta

FeCl₃ : Le chlorure de fer

G250 : Colorant bleu de Coomassie

GPR 30 : G-proteincoupledreceptor 30 (récepteur couplé à une protéine G n°30).

GS–SG : Disulfure de glutathion oxydé

GSSR : Complexe disulfure mixte

H₂SO₄ : Acidesulfurique

HEs : Les huiles essentielles

INERIS : Institut national Français de l'environnement industriel et des risques.

INSERM : Institut national Français de la santé et de la recherche médicale.

IRA : Insuffisance rénale aigue

IRC : Insuffisance rénale chronique.

MRC : Maladie rénale chronique.

NADPH : Le Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NaH₂PO₄: Tompon Phosphate

OM: *Origanum majorana*

ONOO : Peroxynitrite

RCOO : Le radical peroxyde

SAA : L'acide salicylique

SOD : Les superoxydes dismutases

TBA : Acide thiobarbiturique

TBARS: Thiobarbituricacide reactive substances

TCA: Acidetrichloroacétique

TH2: Helper type 2

TR:Thyroid hormone receptor

α (TNF α):Facteur de nécrose tumorale

INTRODUCTION
GENERALE

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une certaine popularité auprès du public.

Origanum majorana appartient à la famille des labiées, est une plante herbacée que l'on trouve dans le sud de l'Europe et la région méditerranéenne, connue sous le nom de marjolaine, peut atteindre 60 cm. *O.M* est largement utilisée comme garniture dans la préparation des aliments, ainsi que d'être une plante médicinale utilisée à des fins différentes dans la médecine traditionnelle de différentes régions. Des études sur cette plante ont permis d'identifier un grand nombre de ses composés actifs (**Nasser, 2018**) ; Les plus importants de ces constituants bioactifs qui sont principalement des métabolites secondaires sont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles (**Tripathy et al., 2016**) qui expliquent ses propriétés biologiques. C'est une plante médicinale aromatique. Une vaste gamme d'activités pharmacologiques, y compris propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, et anticancéreuses, antifongique, anti-inflammatoire, antidiabétique... etc (**Bouyahya, 2017**).

Le bisphénol A constitue un des plastifiants organiques le plus couramment utilisés. En raison de sa fonction semi-oestrogénique, il est considéré comme un perturbateur endocrinien et xénotoxique (**Kazemi, et al., 2016**).

La présente étude vise à évaluer les effets protecteurs possibles de l'extrait d'*Origanum majorana* contre le stress oxydatif induit par le BPA dans les reins des rats wistar. Ces organes ont été largement exploités par les chercheurs comme modèle pour l'évaluation toxicologique.

Ce manuscrit comporte deux parties : la première partie est une synthèse bibliographique structurée en 4 chapitres.

Le premier chapitre est consacré pour des généralités sur les plantes ; le deuxième illustre la plante étudiée et ce troisième traite le stress oxydant et le système antioxydants et le quatrième néphrotoxicité et le bisphénol A.

La deuxième partie est matériel et méthode et les résultats obtenus et leur discussion.

Partie I

Partie théorique

Chapitre I :

Généralités sur les plantes
médicinales

Généralités sur les plantes médicinales

1. La phytothérapie

1.1. Définition

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". C'est la thérapie qui se base sur les vertus thérapeutiques des plantes et de leurs extraits pour le traitement et la prévention des maladies ou pour la promotion de la santé. La phytothérapie permet à la fois de traiter le terrain du malade et les symptômes de sa maladie. Le malade est pris en charge dans sa globalité afin de comprendre l'origine de ses symptômes et d'en prévenir leur apparition (**Bouzouita k, 2016**).

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes :

1. La phytothérapie au sens strict est l'utilisation des différentes parties des plantes (racine, feuilles, fleurs...ou la plante entière) sous différents formes galéniques.
2. La gemmothérapie est l'utilisation des bourgeons de la plante.
3. L'aromathérapie est l'utilisation d'huiles essentielles obtenues grâce à divers procédés d'extraction. L'aromathérapie ne fera pas l'objet de ce travail (**Vernex-Lozet C, 2011**)
4. Homéopathie : Elle a recours aux plantes d'une façon prépondérante mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
5. Phytothérapie pharmaceutique : Utilise des produits d'origine végétale obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide (**Harrag A, 2020**).

La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes à visée thérapeutique ou préventive Elle s'inscrit dans la grande famille des Médecines Alternatives et Complémentaires Mais, la phytothérapie, entre nécessité de preuves scientifiques d'efficacité et d'innocuité des plantes, mêlés à des intérêts mercantiles et une législation floue, se révèle être un domaine complexe, tant sur le plan réglementaire que scientifique (**Durczak E, 2020**).

Généralités sur les plantes médicinales

2. Plantes médicinales

Les plantes médicinales ont fait un retour en force depuis les années 1980, basé sur la valeur établie des années de test de nos ancêtres. Plusieurs facteurs sont à l'origine de ce regain d'intérêt, comme le moindre coût que les médicaments conventionnels, la relative disponibilité notamment dans les zones reculées, la méfiance vis-à-vis des produits de synthèse ou tout simplement l'envie de consommer "biologique", aujourd'hui, même si l'on note là le développement des drogues de synthèse se poursuit. De nombreux pays, même développés, ont recours aux traitements traditionnels. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime que près de 80% des habitants de la planète ont également des remèdes à base de plante (Bounihi A, 2015).

2.1. Principes actifs des plantes

La plante n'est pas médicinale par hasard, ni n'importe comment. Elle a une histoire, un comportement, un message. D'autres vous diront qu'elle a des vibrations, une énergie. Les scientifiques affirmeront enfin qu'elle a des principes actifs et que ce sont ces principes actifs, composants importants de la plante, qui lui confèrent son caractère médicinal. Ils ont raison, mais seulement si l'on tient compte des deux autres propositions. Ce qu'on appelle principe actif est réellement ce qui identifie une plante, ce qui la caractérise, ce qui lui permet d'intervenir sur les fonctionnements de l'organisme, sur tel organe ou tel métabolisme. Mais ces principes actifs ne sont là qu'en fonction de l'histoire, de l'énergie de la plante et ses éléments actifs spécifiques sont là pour correspondre au rôle, au message particulier de la plante. Tout ceci ne fait qu'un et il ne faut pas considérer que la plante n'est que l'emballage, plus ou moins réussi des principes actifs (Fuinel G, 2002).

2.2. Différents principes actifs

2.2.1. Coumarines

Est un composé obtenu à partir de la lactone de l'acide photochromique. Ces coumarines, une fois hydroxylées sur le noyau aromatique, sont des composés phénoliques structurellement altérés. Il est généralement remplacé par un hydroxyle en C7. (GHNIMI W, 2015) Elles possèdent diverses propriétés biologiques, comme agents anti coagulants et sont très fluorescentes, elles sont employées aussi dans la préparation des insecticides.

La majorité des coumarines et leurs dérivées ont été soumises à de profondes investigations dans le but d'évaluer leurs effets sur la santé humaine, les recherches ont montré qu'elles peuvent être des agents anti HIV, anti tumoraux, anticancéreux,

Généralités sur les plantes médicinales

antimicrobiens inflammatoires anti-inflammatoires (**DRIDI F, 2015**).

2.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes appartiennent à la grande famille des polyphénols. Ces derniers se subdivisent en 10 classes dont les flavonoïdes sont la classe la plus abondante. À eux seuls, ils représentent 60% des composés polyphénoliques (**Emeraux E, 2019**) Ils sont considérés comme des pigments presque universels pour les plantes. Tous les flavonoïdes (plus de 4000) ont le même élément structurel de base, la chaîne 2-phénylchromane (**Chaaban E, 2019**).

2.2.3. Alcaloïdes

Ils sont présents dans les fruits et absent dans les feuilles et les tiges (**Chaaban E, 2019**)

Les alcaloïdes sont des molécules organiques hétérocycliques azotées d'origine naturelle pouvant avoir une activité pharmacologique. Ce nom dérive du mot alcalin ; à l'origine, le terme a été employé pour décrire n'importe quelle base de Lewis contenant un hétérocycle azoté. À cause du doublet électronique non liant de l'azote, les alcaloïdes sont considérés comme des bases de Lewis. On trouve des alcaloïdes, en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Habituellement les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés (**Obameengonga I c 2009**).

2.2.4. Tanins

Sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Très répandus dans le règne végétal, ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelque fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (**Beddou F 2015**).

Ce qui leur confère une défense contre les prédateurs (insectes, mammifères herbivores) et les attaques des phytopathogènes (bactéries, virus, champignons). Du point de vue des composants chimiques, on peut distinguer deux grandes familles : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Moufida R 2020**).

Généralités sur les plantes médicinales

2.2.5. Saponines

Les saponines sont une classe importante de métabolites secondaires des plantes. La structure chimique des saponines consiste en un groupe aglycone de type stéroïde triterpénoïde et une ou plusieurs chaînes glycosides. Les saponines tirent leur nom du mot latin "sapo", qui signifie mousse, car elles forment des mousses stables dans les solutions aqueuses. Ils sont présents dans de nombreux végétaux (saponine, quinoa...) sous forme d'hétérosides (saponines). Les propriétés de détergence des plantes à saponines ont été étudiées (**Bechlem h, 2018**).

2.2.6. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violette et bleue observées dans la nature. Les anthocyanes interviennent directement dans les interactions plantes-animaux et surtout dans l'attraction des pollinisateurs par la couleur des fleurs. Plus de 500 composés anthocyanidines sont connus selon le degré d'hydroxylation et de méthylation du cycle B. Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (**Saidi I, 2019**).

2.2.7. Glycosides (Hétérosides)

Les glycosides sont des substances organiques complexes qui résultent de l'établissement d'une composante osidique et d'une composante non osidique (aglycone ou la génine).

Il existe un très grand nombre d'hétérosides végétaux. Certains sont très répandus tandis que l'existence d'autres est limitée à quelques centaines d'espèces ou même à un seul genre ou à une seule espèce (**Azzi R, 2013**).

2.2.8. Vitamines

Substances aminées nécessaires, en faible quantité, au maintien de la vie. Les vitamines sont des substances qui agissent à faibles doses. On distingue les vitamines hydrosolubles et liposolubles. Bien qu'elles soient souvent plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. Le citronnier notamment contient des doses élevées de vitamine C et la carotte est riche en bêta-carotène (pro vitamine A) (**Sebai, M., & Boudali, M. 2012**).

Généralités sur les plantes médicinales

2.3. Préparation des plantes médicinales

Pour traiter les maladies, diverses modes des préparations des drogues sont employées à savoir la décoction, la poudre, l'infusion, les compresses, la pommade et la macération. La décoction et la poudre sont les modes les plus utilisables avec 32.73 % et 29.09 %, puis l'infusion avec 18.18 % ; le cataplasme avec 9.09%, ensuite la pommade avec 7.27% et en dernière position la macération et la compresse avec 01.82 % pour chacun.

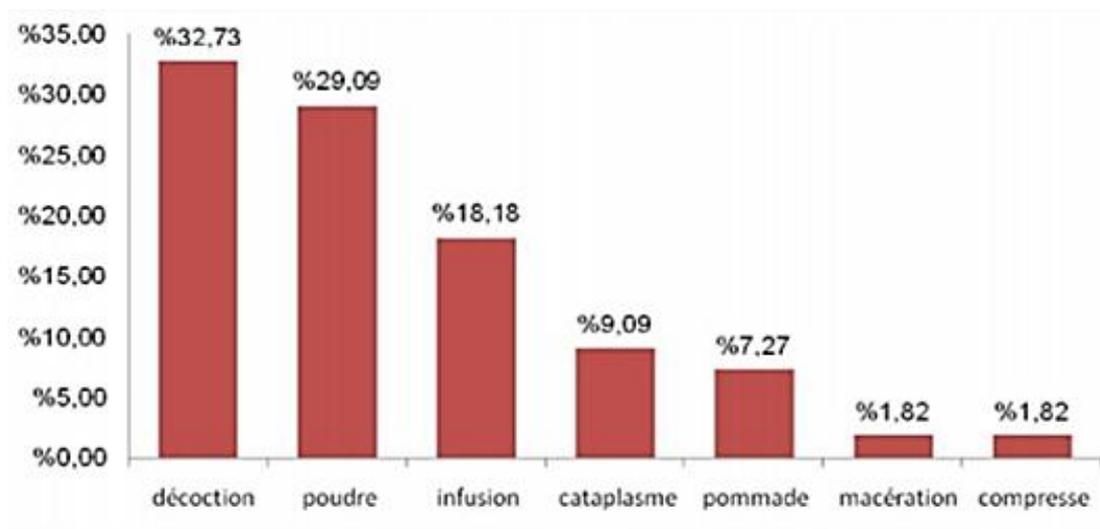


Figure 01 : Importance des plantes médicinales selon le mode préparation (ABID et al 2014)

La décoction est le mode de préparation bénéfique afin d'extraire une quantité maximale des principes actifs. Alors que les autres formes d'utilisation (cataplasme et poudre), sont variables selon les caractéristiques physico-chimiques de la plante (Kemassi A. et al 2014).

2.4. Toxicité des plantes médicinales

Pour de nombreuses personnes, le terme plante est synonyme de naturel et d'absence de danger. Or, les centres antipoison recensent un pourcentage non négligeable d'appels liés à des intoxications par des végétaux (Wartel F 2019).

L'effet toxique des plantes est basé sur leurs constituants chimiques qui sont classés en alcaloïdes, glycosides, protéines, oxalates, anti-vitamines, tanins, etc. Ils modifient des mécanismes spécifiques dans la résolution d'enzymes, de récepteurs et même de matériel génétique au niveau de cellules et de tissus particuliers (Chandra Sekhar, J et al, 2012).

Chapitre II

Présentation de la plante

Présentation de la plante

1. Famille de lamiacée

Il s'agit de l'une des principales familles de plantes dicotylédones, qui comprend environ 258 genres et 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (**Botineau, 2010**)

1.1. Caractères généraux des Lamiacées

1. Les tiges sont quadrilatères, du moins lorsqu'elles sont jeunes, et sont des branches opposées
2. Les feuilles opposées sont simples, parfois embarrassantes, toujours sans stipules, à limbes penninerves,
3. Inflorescences formées de verticilles pseudo-axillaires ou glomérules issus de la réunion de 2 cymes secondaires
4. Les fleurs hermaphrodites ou unisexuées sont accompagnées de bractéoles et ont évolué pour s'adapter à la pollinisation par les insectes (insectes)
5. Le calice est un gamosépale persistant à 5 sépales fusionnés,
6. la corolle est gamopétale et zygomorphe. Elle comprend un tube plus ou moins long, droit ou incurvé, souvent poilu. Le limbe est bilabié, partagé en 5 lobes (2 pour la lèvre supérieure, 3 pour la lèvre inférieure)
7. les étamines sont au nombre de 4 : 2 grandes et 2 petites (sauf pour le genre *Mentha* qui en compte 5),⁷
8. le gynécée est formé de 2 carpelles formant un ovaire biloculaire reposant sur un disque glanduleux et possédant 2 ovules par loge. Chaque loge se subdivise par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées. Les ovules sont anatropes ascendants à raphé interne,
9. le fruit est un tétrakène formé de 4 nucules secs enveloppés par le calice (**Moyse, 1971 ; Chadeffaud & Emberger, 1960**).

2. *Origanum*

2.1. Position systématique

Classification d'après **Deysson (1967)** :

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Présentation de la plante

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Série : Superovariées tétracycliques

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Sous-famille : Népétoïdées

Genre : *Origanum*

2.2. Description botanique du genre L'*Origanum*

Est une plante herbacée vivace (Aiboud, 2012), et arbustive (Aligiannis et al., 2001) de 30 à 90cm de haut, leurs tiges sont carrées basses ligneuses et persistantes, dressées portant des branches latérales sur le quart ou la moitié supérieure de longueur variable de 10 à 60 cm, à des petites feuilles simples, ovales, vert foncé, opposées et espacées possèdent des glandes sécrétrices sessiles ou pédonculées sur leur surface, ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles. Les inflorescences sont en épis, elles-mêmes réunies en inflorescences composées (Chikhoun, 2007) portées par chacune des tiges et chacune des branches, les bractées sont arrondies, ovales ou lancéolées petites ressemblent à des feuilles, ou grandes fines souvent de couleur jaune-vert (Figueredo, 2007). Les fleurs blanches ou roses sont groupées en inflorescences, et sont situées dans l'aisselle d'une bractée ovale, et dépassant le calice. Ce calice est la partie la plus variable dans l'*Origanum* qui est tubuleux à cinq dents courtes soudées bilabié ou non formé par une ou 2 lèvres plus ou moins dentées et soudées. La corolle est blanche, rose ou bien pourpre, en forme de tube est dressée avec 2 lèvres. Les fruits sont constitués d'akènes bruns, ovoïdes (Bouhadouda, 2016 ; Mahfouf, 2018).

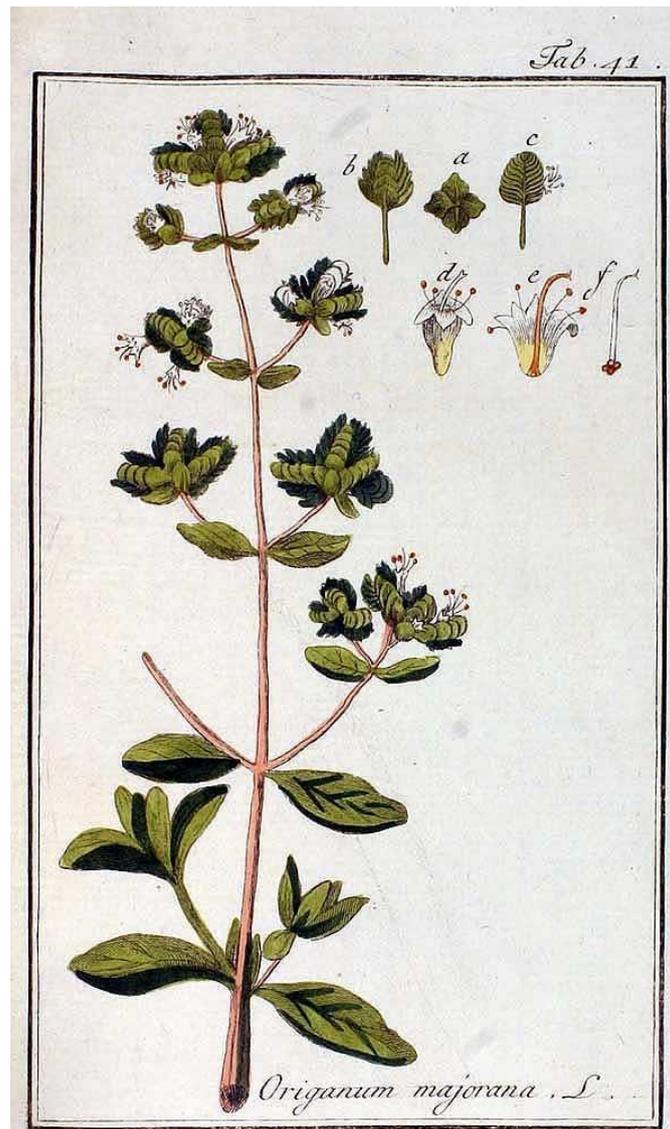


Figure 02 : Aspect morphologique d'*Origanum majorana* (Oskamp, 1796).

A : calice, b : corolle, c : fleur, d : gynécée, e : étamine, f : style

3. La marjolaine

3.1. Définition

Est une plante annuelle appartient à la famille des Lamiacées, cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles aromatiques (Dubois et al, 2006).

3.2. Nomenclature

Elle est parfois appelée Marjolaine des jardins. Autres noms communs : marjolaine Officinale, marjolaine à coquilles (Dubois J et al, 2006). Selon les langues ; il y a plusieurs nom de la Marjolaine. Parmi eux :

Nom allemand : Garten-Majoran

Nom français : Marjolaine du jardin

Nom italien : Maggiorana

Nom Arabe : Merdeqouch ou Merdaqouch selon les magrébines) (Baba Aissa F., 2011) ; Merdgouch. (Beloued A., 2009)

Nom Anglais : Marjoram

Nom Berbère ou Teurgui : Arzema, M'loul(Beloued A., 2009)

3.3. Répartition

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par Ietswaart en 1980. Il reconnaît 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous-espèces, 3 variétés et 16 hybrides (tableau 1). Le genre *Origanum* est largement présent dans des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'Asie de l'Est. On peut le rencontrer aussi en culture à Cuba ou dans l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante (figure 03). Certaines espèces sont endémiques à un pays. Par exemple *O. saccatum*, *O. boissieri*, *O. hypericifolium*, *O. sipyleum*, *O. acutidens*, *O. haussknechtii*, *O. brevidens*, etc... Sont particulières à la Turquie, pays qui est considéré comme le centre génique du genre *Origanum* puisqu'il en possède 16 espèces (Baser, 1995).



Figure03 : Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980)

3.4. Description botanique de la marjolaine

Origanum majorana L., aussi connue sous le nom de Marjolaine ou Origan desjardins, est une herbacée qui appartient à la famille des Lamiacées ne dépassant pas 80 cm de haut (Iratni, 2016), qui a des feuilles de 1 à 2 cm de long, opposées, vert grisâtre,

Présentation de la plante

ovales entières; ses fleurs sont petites, blanches ou violettes, disposées en groupes axiaux serrés avec deux bractées en forme de cuillère (**Lakhrissi, 2015**). Les fleurs de cette plante sont hermaphrodites dans la nature ayant les deux sexes sur la même plante. Les graines sont minuscules, ovales, foncées et brunes qui mûrissent d'août à septembre. *L'origanum majorana* a des racines pivotantes. Elles ont un diamètre de 0,2 mm à 0,6 mm. Les racines de la plante sont de forme sub-cylindrique et plissées longitudinalement avec des fissures transversales. Elle a une odeur aromatique et un goût non persistant. Les fractures sont longues, irrégulières et fibreuses (**Muqaddas, 2016**).



Figure04: Parties aériennes d'*Origanum majorana* L.

3.5. Activités biologiques d'*Origanum majorana*

3.5.1. Activité antioxydante

L'extrait Aqueux, l'huile essentielle et l'extrait d'acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*O majorana* ont une activité antioxydante importante. Des propriétés antioxydantes ont également été rapportées à partir d'autres extraits de marjolaine douce, y compris éthanolique, n-hexane et hydroalcoolique extractif. Les composés phénoliques tels que l'acide hydroxycinnamique et les flavonoïdes, l'acide ursolique, l'acide carnosique, le carnosol, l'acide rosmarinique et l'acide caféique sont responsables de l'activité antioxydante (**Bina et Rahimi, 2017**).

3.5.2. Activité Antibactérienne

Les huiles essentielles (HEs) dérivées des feuilles a montré un effet antibactérien sur diverses bactéries (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*...). L'extrait à l'éthanol et à l'eau d'*O.M* L'a montré une activité antibactérienne contre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatives et leur possible nourriture applications par concentration minimale d'inhibition estimation (**Pererna et Vasudeva, 2015**).

3.5.3. Activité Antidiabétique

L'extrait méthanolique des feuilles a montré des activités diabétiques chez les souris induites par la streptozotocine par divers tests in vitro et in vivo. *O M* a élevé montré des effets significatifs sur l'inhibition in vitro des formations du produit final de glycation. L'effet était plus élevé que celui de l'agent standard d'anti-glycation, l'amino-guanidine (**Muqaddas, 2016**).

3.5.4. Activité Antifongique

Les HEs obtenus à partir des feuilles de marjolaine ont montré une activité antifongique contre *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*. Divers extraits du feuilles à savoir, n-hexane, éthanol aqueux, éthanol les extraits d'ammoniaque ont montré un effet antifongique in vitro contre six *Candida* sp. Souches de levure par le disque méthode de diffusion. L'extrait de n-hexane avait montré activité antifongique la plus élevée (**Pererna et Vasudeva, 2015**).

3.5.5. Activité anti-inflammatoire

L'hydrate de sabinène et le terpinéol contenus dans l'huile essentielle de marjolaine sucrée ont supprimé la production de facteur de nécrose tumorale α (TNF α), d'interleukine 1 β (IL-1 β), d'IL-6 et d'IL-10 inhibé la cyclooxygénase 2 (COX2) et l'expression du gène NF κ B (**Bina et Rahimi, 2017**).

Chapitre III

Stress oxydant

1. Stress oxydant

1.1. Définition

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre profond entre les antioxydants et les prooxydants en faveur de ces derniers. Cette situation peut résulter d'une déficience ou d'une défaillance en systèmes antioxydants, des troubles de production, de distribution ou d'une abondance accrue des prooxydants (Noichri Y, 2016). La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques (acides nucléiques, protéines, lipides, glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Ferdjioui S, 2020).

1.2. Origines du stress oxydant

1.2.1. Radicaux libres

1.2.1.1. Définition

Un radical libre est un atome ou une molécule qui possède sur sa couche externe un ou plusieurs électrons célibataires non appariés qui lui procurent une très grande réactivité. Les radicaux libres résultent d'une rupture homolytique d'une liaison covalente (Belhattab R, 2007).

1.2.1.2. Types de radicaux libres

1.2.1.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Elles comprennent des radicaux dérivés de l'oxygène appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) tels que : le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$) (le radical le plus réactif), l'anion superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$), l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), le peroxyde d'hydrogène (HO_2) et le radical peroxyde ($\text{RCOO}\cdot$)... (Ferdjioui S, 2020).

1.2.1.2.2. Espèces réactives de l'azote (ERN)

Le radical $\text{NO}\cdot$ est produit dans les organismes supérieurs par l'oxydation de l'un des atomes d'azote de L-arginine. Ce processus est catalysé par l'enzyme $\text{NO}\cdot$ synthase. Selon le microenvironnement, le $\text{NO}\cdot$ peut être converti en diverses autres espèces

réactives d'azote (ERN) telles que le cation nitrosonium (NO⁺), l'anion nitroxyde (NO⁻), dioxyde de nitrogen (NO₂) ou peroxydinitrite (ONOO⁻) (**Ferdjioui S, 2020**).

1.2.1.2.3. Espèces réactives de l'oxygène ROS

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) incluent les radicaux libres possédant au moins un électron libre sur la couche externe (radical hydroxyl OH[·], superoxyde O₂^{·-}, le radical peroxy ROO[·]) et les dérivés non radicalaires, dont la réactivité est très élevée comme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, l'oxygène singulet ¹O₂ et l'acide hypochloreux HOCl (**Kada S, 2018**).

A cause de leur hyperréactivité, les radicaux libres ont une demi-vie très courte (quelques nanosecondes à quelques millisecondes). Cette réactivité dépend des éléments en présence, si un radical rencontre un autre radical, le produit sera non radicalaire (A[·]+B[·]→AB). Si un radical rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé (A[·]+B→A+B[·]) et donnera naissance à une chaîne qui continuera jusqu'à ce que le radical rencontre un autre radical ou un antioxydant (**Kada S, 2018**).

Les espèces réactives de nitrogène (ERN) sont dérivés de l'oxyde nitrique ou du monoxyde d'azote comme le radical monoxyde d'azote (NO[·]), l'anion peroxydinitrite (ONOO⁻) et le radical dioxyde d'azote (NO₂[·]) (**Kada S, 2018**).

1.2.2. Antioxydants :

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. En d'autres termes, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité de substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (ROS), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines et les carbohydrates (**Mahfouf N, 2018**). L'effet antioxydant est surtout dû aux composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les acides phénols et les diterpènes phénoliques grâce à leurs propriétés redox, les composés phénoliques jouent un rôle important en absorbant et en neutralisant les radicaux libres, les singlets et les triplets d'oxygène, ou en décomposant les peroxydes (**BELHATTAB R, 2007**).

1.2.2.1. Types des antioxydants :

1. Antioxydants enzymatiques

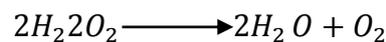
1. Superoxydesdismutases (SOD)

Ces enzymes transforment le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en H_2O_2 beaucoup moins réactif. Cette réaction considérée la plus rapide à ce jour, constitue le facteur déclenchant les mécanismes de la défense naturelle (Tamart, A, 2016).

2. Catalase (CAT)

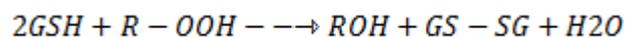
La catalase est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries elle se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons . Le principe est basé sur la disparition de l' H_2O_2 en présence de la source enzymatique (catalase) à 25 C° selon la réaction suivante (Tamart, A ,2016).

Catalase

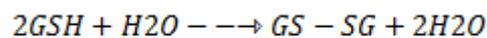


3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase est une enzyme dépendante du sélénium. Elle catalyse la réduction d'une variété d'hydroperoxydes organiques (ROOH) ou inorganique (H_2O_2), en utilisant le glutathion



GPx

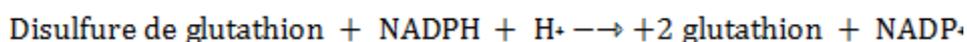


GSH : Glutathion réduit

GS-SG : disulfure de glutathion oxydé (Tamart, A, 2016).

4. Glutathion réductase

Elle est une oxydoréductase permet de réduire le disulfure de glutathion en glutathion à l'aide de NADPH (Tamart, A, 2016).



1.2.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques

1. Zinc

Le zinc est un élément métallique de symbole Zn et de numéro atomique 30. Le zinc est un oligoélément essentiel pour l'homme. Il fonctionne comme un antioxydant complexe, il participe aux activités de chélation enzymatique (superoxydedismutase), stabilise les membranes cellulaires et inhibe la peroxydation lipidique (**Tamart, A 2016**).

2. Sélénium

a été découvert en 1817 par les chimistes suédois JönsJakobBerzélius et Johan Gottlieb Gahn dans les boues des chambres de plomb utilisées pour la préparation de l'acide sulfurique, C'est à partir des années 1950 que des études sur des animaux ont permis de démontrer l'importance cruciale de l'action synergique du sélénium et de la vitamine E, deux antioxydants notoires, dans la prévention de diverses maladies (**Mansouri A ,2014**).

3. Vitamine C

La vitamine C est un antioxydant hydrosoluble considéré comme le plus efficace des antioxydants présents dans le sang (**Tamert A, 2016**).Importante pour l'homme car elle joue le rôle de cofacteur enzymatique et d'un antioxydant Pour le rôle de cofacteur enzymatique, la vitamine C permet la synthèse de la carnitine,du collagène, des catécholamines, assure le métabolisme des stéroïdes, de la tyrosine, du cholestérol, la formation de l'acide biliaire et la transformation de la dopamine en noradrénaline. Pour le rôle d'antioxydant, la vitamine C assure la protection et le maintien des protéines, des lipides, de l'ADN, des enzymes et d'autres antioxydants dans leur forme normale par la réduction des ions métalliques et en piégeant les radicaux libres (**Adimi L, 2016**).

4. Vitamine E

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble découverte en 1922 par Evans et Bishop. Elle se concentre au niveau des membranes cellulaires et intracellulaires grâce à sa double affinité pour les lipides (sa chaîne latérale) et pour les protéines (son noyau chromanol). Ainsi fixée, elle protège les acides gras insaturés des membranes contre l'oxydation, grâce à la mise en place de chaînes d'oxydoréductions faisant intervenir des molécules soufrées (cystéine, glutathion) et le sélénium (**Tamart A ,2016**).

5. Polyphénols

On définit les polyphénols comme composés antioxydants. Cette propriété est due aux groupes hydroxyles phénoliques. Ils sont considérés comme agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et éliminateurs de l'oxygène singulet. Certains présentent des propriétés chélatrices de métaux et d'autres empêchent la production enzymatique des ROS. Les polyphénols sont des composés naturels, produits par plusieurs plantes. Ils ont un rôle important dans la protection des plantes contre les rayons ultraviolets, les agents

6. Glutathion

Est un constituant intracellulaire ubiquiste présent à des concentrations millimolaires dans la plupart des cellules et micromolaires dans le plasma. Dans des conditions physiologiques, le glutathion réduit (GSH) représente la très grande majorité du glutathion total (90 à 98%) ; lors d'un stress oxydant le GSH est oxydé avec la formation de pont disulfure, GSSG, et/ou de pont disulfure mixte, GSSR (R étant fixé à un autre thiol radicalaire). Le glutathion agit également comme Co-substrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase. Le glutathion protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes (Tamart A, 2016).

4.2.2.1.3. Antioxydants synthétiques

Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique (gallate de propyle, gallate d'octyle et gallate de dodécyle) sont des antioxydants synthétiques lipophiles. Le BHA et le BHT sont les plus fréquemment utilisés. Ceux-ci sont principalement employés comme conservateurs, à faible concentration, dans les produits cosmétiques et alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement. Néanmoins, leur utilisation reste controversée, les produits de dégradation du BHA et du BHT étant suspectés d'être cancérogènes.

De plus, dans le domaine alimentaire, des réactions d'hypersensibilité ont été recensées pour les gallates, le BHA et le BHT. Enfin, des réactions allergiques (de type urticaire) ont été observées chez certains sujets sensibles au BHA et BHT. A ce jour, aucun texte ne mentionne ni ne réglemente l'utilisation de tels antioxydants (Zeraregui F, 2015).

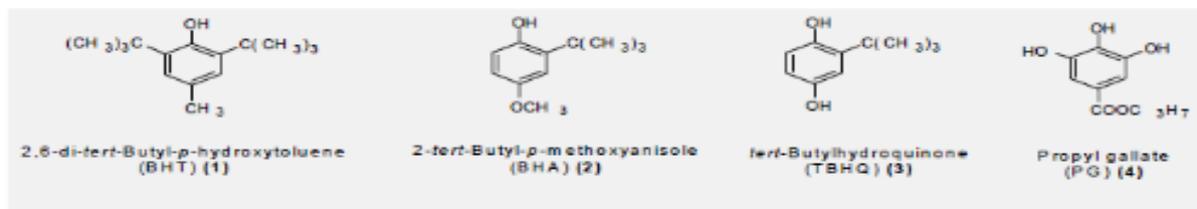


Figure05: Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques. (El kalamouni CH,2010).

Chapitre IV

*Bisphénol A et
néphrotoxicité*

1. Bisphénol A

1.1. Définition du Bisphénol A

Le Bisphénol A (BPA) ou 2,2-bis (4-hydroxyphényl) propane, composé chimique organique, a été synthétisé pour la première fois en 1891 par le chimiste russe Alexandre Dianin. Il est issu d'une réaction de condensation catalysée par l'acide chlorhydrique ou par une résine de polystyrène faisant intervenir deux phénols et une cétone (**Inserm, 2010 ; Shimizu et al. 2008**).

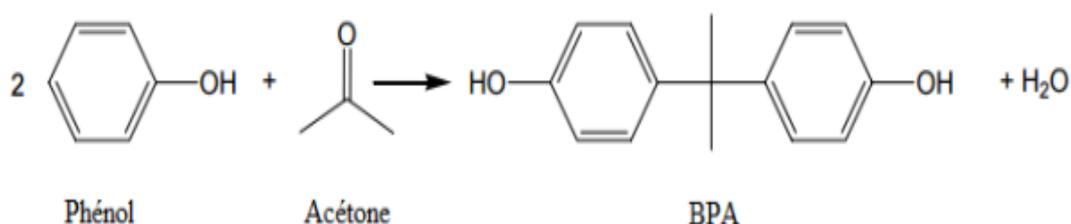


Figure 06 : Réaction de condensation en catalyse acide du BPA (**Shimizu et al. 2008**).

1.2. Les propriétés physicochimiques du bisphénol A

Tableau 01 : Principales caractéristiques physicochimiques du BPA et leurs conséquences physiologiques.

Propriétés	Données	Conséquences
N°CAS (Chemical Abstract Service)	80-05-7	
Formule chimique	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	Molécule de petite taille
Structure chimique		
Masse molaire	228,29 g.mol ⁻¹	
Densité	1,1 - 1,2 à 25°C	
Solubilité dans l'eau	120 – 300 mg/l à 25°C	Molécule hydrophobe
Coefficient de partage n-octanol/eau (log Kow)	3,32 - 3,4	Molécule lipophile (Log Kow >3)
Constante d'ionisation (pKa)	9,59 – 11,3	Molécule non ionisée au pH physiologique
Pression de vapeur (Pa)	5,3. 10 ⁻⁶ à 25°C	Molécule non volatile

1.3. Toxicités du bisphénol A

1.3.1. Toxicités aiguë

1. Chez l'animal

Après exposition par voie inhalation :

À l'autopsie : -une légère inflammation de l'épithélium nasal et une légère ulcération du conduit oro-nasal ont été observées.

Après exposition par voie orale :

À l'autopsie : une congestion du foie, des reins, des poumons et du cerveau ainsi qu'un tractus gastro-intestinal hémorragique.

Irritation de l'œil.

Légers et passagers effets inflammatoires locaux.

BPA est un irritant sensoriel fort pour la souris et le rat.

2. Chez l'homme

Irritation cutanée chez des salariés exposés de façon prolongée au bisphénol A dans des opérations d'ensachage.

Irritation des muqueuses respiratoires et oculaires.

Les salariés exposés à des résines époxydiques ou à des gants en PVC haute densité contenant du bisphénol A ont présenté des réactions allergiques cutanées.

1.3.2. Toxicité chronique

3. Chez l'animal

Exposition répétée par voie orale

Le foie et les reins sont les principaux organes cibles (lésions hépatiques et rénales).

Une baisse de poids corporel et une diminution du poids absolu de certains organes (foie, reins, glandes surrénales, rate, Cerveau)

Exposition par inhalation

L'Hyperplasie et une inflammation sont rapportées au niveau des épithéliums du tractus respiratoire.

1.4. Effets du bisphénol A

1.4.1. Effets génotoxique

BPA perturbe le fuseau mitotique ou méiotique, induit une aneuploidie et engendre des adduits à l'ADN.

1.4.2. Effets sur le système immunitaire

Induction des lymphocytes T, et plus particulièrement des lymphocytes Th2, accompagnée de la surproduction des cytokines.

1.4.3. Effet sur la fonction thyroïdienne

1.4.4. Effets cancérogènes

Le bisphénol A possèdent un potentiel œstrogénomimétique puissent induire une augmentation du risque de certains cancers hormonodépendants (seins, prostate) en cas d'exposition durant la période néonatale.

1.4.5. Effets sur la reproduction

1. Infertilité

Les modifications spermatiques : diminution du nombre, de la mobilité et de la vitalité des spermatozoïdes.

L'infertilité masculine.

Les troubles de la maturation ovocytaire chez la femme.

1. Développement

La survenue de troubles neurocomportementaux (troubles anxio-dépressifs, hyperactivité, inattention) chez l'enfant à différents stades du développement postnatal.

Chez l'homme

Diabète de type 2.

L'obésité.

L'atteinte de la fonction hépatique ou d'affections cardio-vasculaires (maladies coronariennes, hypertension artérielle). (INRS, 2021).

1.5. Métabolisme du Bisphénol A

Le BPA, arrivant au foie par la veine porte, subit une réaction de métabolisation de phase II sous l'action d'enzymes de biotransformation responsables de la conjugaison des xénobiotiques, aboutissant alors à la formation d'un composé conjugué hydrosoluble (**Inoue et al. 2001**).

En effet, la glucuronoconjugaison, par l'ajout d'un acide glucuronique à la molécule de BPA catalysé par les UDP-glucuronosyltransférases (UGT) dans les microsomes hépatiques, conduit à la formation du BPA-Glucuronide (BPA-G) (**Yokota et al. 1999**). De plus, la glucuronoconjugaison représente la principale voie de détoxification de l'organisme vis-à-vis du BPA chez les mammifères (**Völkel et al. 2005**).

La sulfoconjugaison, quant à elle, permet la synthèse du BPA-sulfate (BPA-S) sous l'action des sulfotransférases qui fixent un groupement sulfate sur le BPA (**Pottenger et al. 2000**). L'étude de Zalko et al. En 2002 a révélé l'existence d'autres métabolites formés tels que des composés di-conjugués, méthoxylés, déshydratés, di-glucuronides et des dérivés catéchols après administration sous cutanée de 25 µg/kg de H3-BPA (substance radioactive) chez des souris gravides (Figure07). Ces métabolites sont biologiquement inactifs et dépourvus d'activité œstrogénique car leurs structures tridimensionnelles ne leur permettent pas de se fixer aux récepteurs aux œstrogènes (**Matthews et al. 2001**).

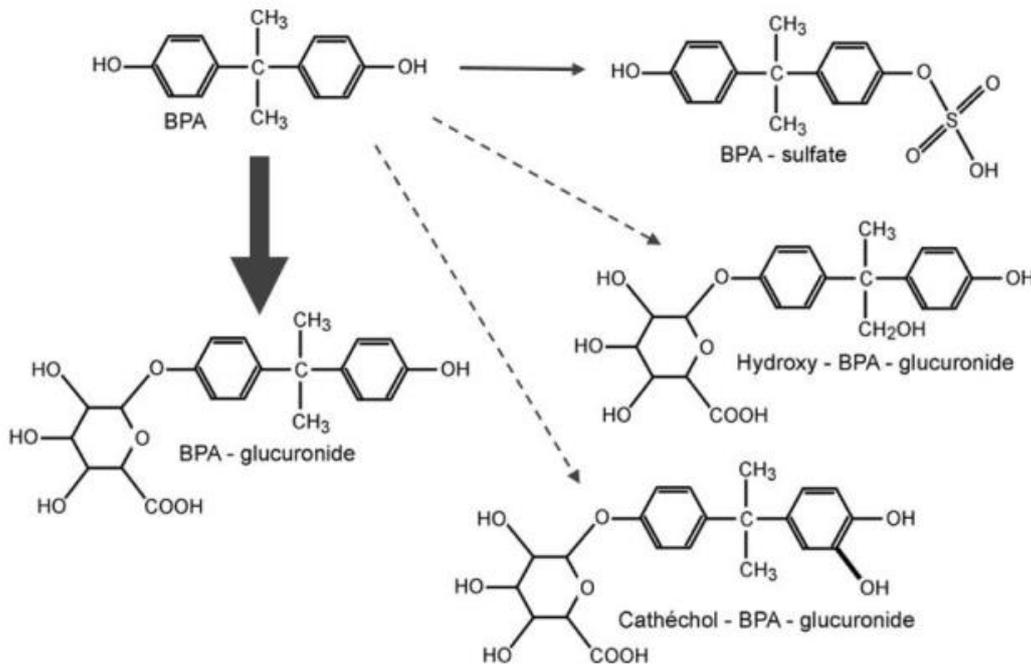


Figure 07 : Voies métaboliques majeures du BPA chez les Mammifères (Inserm, 2010).

Chez l'Homme, les deux métabolites principaux sont le BPA-G et le BPA-S avec une prépondérance pour le BPA-G.

Par conséquent, la métabolisation rapide et intense du BPA au niveau hépatique et/ou intestinal contribue à une faible biodisponibilité du BPA par voie orale. Elle a été estimée à moins de 1% chez le singe rhésus (Doerge et al. 2010b) et à 2,8% chez le rat adulte (Doerge et al. 2010a). Cette faible biodisponibilité est à l'origine de très faibles concentrations plasmatiques de la forme active du BPA mises en évidence après administration orale de BPA chez le rat adulte (Doerge et al. 2010a), la souris adulte (Taylor et al. 2010), et chez l'Homme adulte (Völkel et al. 2002) associées à des clairances plasmatiques de 62,6 ml/(kg.min) chez le rat adulte, de 25,9 ml/(kg.min) chez le mouton adulte et de 25,6 ml/(kg.min) chez l'Homme adulte, mesurées après administration IV de 5 mg/kg de BPA (Collet et al. 2015). La clairance plasmatique humaine est de même ordre de grandeur que le débit sanguin hépatique ce qui suggère que le foie est un organe très important dans le processus de détoxification du BPA par l'organisme (Collet et al. 2015).

Ainsi cet important effet de premier passage hépatique limite l'exposition interne à la forme active du BPA. Cependant, le débit sanguin du foie est variable d'un individu à l'autre mais également selon l'activité de l'individu. Cette variabilité entraîne une

modification de l'effet de premier passage hépatique ce qui pourrait expliquer la différence interindividuelle d'exposition interne au BPA (**Collet et al. 2015**).

Par ailleurs, lorsque le BPA est absorbé par voie cutanée ou sublinguale, il rejoint directement le cœur et la circulation générale sans être soumis au métabolisme hépatique ce qui a pour conséquence d'augmenter l'exposition interne de l'individu (**Gayrard et al. 2013 ; Mielke et al. 2011**).

1.6. Elimination du Bisphénol A

Le BPA métabolisé par le foie et/ou l'intestin en conjugués hydrosolubles, est éliminé par voie urinaire ou fécale.

Chez l'Homme, le BPA est rapidement et majoritairement excrété dans les urines sous forme de BPA-G avec une demi-vie d'élimination de 4 à 6h et une élimination complète en 24h (**Völkel et al. 2002**). En effet, dans l'étude de **Pottenger et al. (2000)**, il a été montré qu'après administration orale de 100 mg/kg de BPA à des rats mâles et femelles, 57% à 70% du BPA éliminé dans les urines est sous la forme BPA-G et que 1,7 à 3,6% représente du BPAS. De même, 75% et 85% du BPA absorbé et éliminé dans les urines respectivement des femmes et des hommes est sous la forme glucuronidée (**Völkel et al. 2005**). De plus, des études réalisées sur différents modèles animaux ont indiqué que le BPA, sous forme active, représente une part minoritaire du BPA total, généralement inférieure à 3%. (**Doerge et al. 2010a et b, Farbos, 2012**). Une étude récente réalisée par **Liao et Kannan, en 2012**, a présenté pour la première fois des résultats sur les différentes formes de BPA urinaire (non conjugué et conjugué) chez l'Homme dans laquelle les formes de BPA conjugué ont été analysées directement et non de manière indirecte, comme cela est généralement déterminé par différence du BPA non conjugué, avant et après déconjugaison enzymatique. Elle a ainsi montré que le BPA-G représenterait $57\pm 34\%$ du total, suivi du BPA non conjugué ($32\pm 31\%$), du BPA-S ($7\pm 14\%$) et enfin des formes substituées par 1, 2 ou 3 atomes de chlore qui représenteraient une part de quelques pourcents du BPA total.

Chez les rongeurs un cycle entéro-hépatique du BPA a été mis en évidence. Dans leur étude en 2000, **Pottenger et al.** ont montré qu'après administration de 100 mg/kg de BPA par voie orale ou intrapéritonéale ou sous-cutanée à des rats, 52 à 83% de la dose initiale est retrouvée dans les fèces alors que seulement 21 à 34% du BPA initial est excrété dans les urines sous forme principalement de BPA-G. En effet, lors du premier

passage hépatique, une partie du BPA-G est éliminé dans la bile et rejoint ainsi le tube digestif ce qui explique sa présence importante dans les fèces. En outre, certaines bactéries digestives, possédant une activité β -glucuronidase, déconjugent le BPA-G en BPA permettant alors sa réabsorption à travers la barrière intestinale (**Inoue et al. 2001**).

De ce fait, l'existence d'un cycle entéro-hépatique chez les rongeurs est à l'origine d'un prolongement de la demi-vie d'élimination, à savoir 24 à 48h (**Kurebayashi, 2003**) et donc d'une exposition interne à la forme active du BPA plus importante que chez l'Homme.

Cependant, d'après le modèle pharmacocinétique actuelle du BPA, les concentrations plasmatiques prédites chez l'Homme sont très faibles, de l'ordre du mg/ml. Or certaines études de bio-surveillance mettent en évidence des valeurs de concentrations plasmatiques plus élevées, de l'ordre du mg/ml (**Vandenberg et al. 2010**). Cet écart entre les valeurs prédites et celles observées pourrait être expliqué par l'intervention d'autres voies d'exposition (voie sublinguale, voie cutanée) ou de cycles modulant l'élimination (cycle entéro-hépatique, cycle vésico-hépatorenal) que ne prévoient pas le modèle pharmacocinétique actuel.

Dans le cadre de notre thèse, nous avons évalué la possibilité du cycle vésico-hépatorenal pour le BPA.

1.7. Mode d'action du bisphénol A dans l'organisme

L'ensemble des mécanismes d'action du BPA restent encore obscures. Cependant, plusieurs études ont été menées dans ce sens afin d'éclairer cette zone d'ombre. Tout d'abord, le BPA est reconnu comme un agoniste faible des œstrogènes. En effet, avec ses deux noyaux phénoliques celui-ci peut se lier aux récepteurs nucléaires des œstrogènes α et β (ER α et ER β) tout comme l'œstradiol (E2). Cependant son affinité est 10000 fois moins importante que ce dernier. (**Kuiper et al., 1998**).

Ainsi, cette faible affinité ne peut en aucun cas expliquer les effets observés à de faibles doses in-vitro et in-vivo et pour des tissus et des organes non liés à la reproduction.

De plus certaines études ont montré des réponses au BPA qui suivent des courbes non monotones et qui de ce fait ne peuvent être expliquées par une action sur un seul type de récepteur. C'est pour ces raisons que plusieurs groupes de recherche ont cherché à mettre

en évidence d'autres médiateurs des effets du BPA

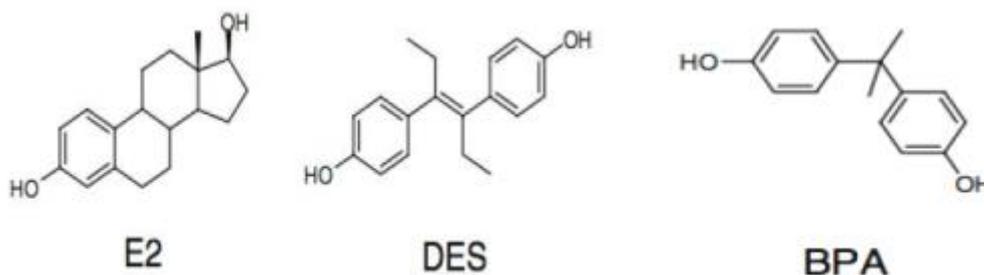


Figure 08 : Structures chimiques de l'œstradiol (E2), du diéthylbestrol (DES) et du bisphénol A (BPA) (Inserm, 2010).

Le BPA pourrait donc interagir avec d'autres récepteurs nucléaires et membranaires et qui sont représentés par (Inserm, 2010 ;Bonacorssi et al,2008 ;Emond et al,2011 ;Tohmé et al, 2014).

Les récepteurs des œstrogènes membranaires dont la liaison explique certains effets rapides (non génomiques). - Les récepteurs nucléaires des androgènes (AR) pour les quels le BPA est un antagoniste contrairement aux récepteurs ERS (action agoniste et féminisante). C'est l'action synergique du BPA sur ces deux types de récepteur qui pourrait expliquer les effets observés à de faibles doses.

Le récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR).

Le récepteur transmembranaire des œstrogènes.

Les récepteurs des hormones thyroïdiennes (TR).

Le récepteur transmembranaire GPR30 impliqué dans la prolifération cellulaire.

Le récepteur gamma apparenté aux récepteurs des œstrogènes (récepteur orphelin $ERR\gamma$).

2.Néphrotoxicité :

2.1. Définition de la néphrotoxicité

La néphrotoxicité peut être définie de façon très large comme l'ensemble des altérations fonctionnelles ou structurelles rénales, induites directement ou indirectement par des agents chimiques ou leurs métabolites (BPA par exemple), qui sont absorbés dans l'organisme quelle qu'en soit la voie de pénétration (BOUZOUITA,2016).

2.2. Insuffisance rénale aiguë (IRA)

L'IRA est définie par un déclin rapide de la fonction des néphrons, se développant sur quelques heures à quelques jours, responsable de perturbations hydro électrolytiques et acido-basiques plus ou moins marquées avec perte consécutive de l'homéostasie. La notion d'IRA est longtemps restée imprécise sur le plan opérationnel. Selon les dernières recommandations de la KidneydiseaseImproving Global Outcomes (KDIGO), l'insuffisance rénale aiguë correspond à une baisse brutale de la fonction rénale définie par un des trois éléments : une élévation absolue de la créatininémie ≥ 3 mg/l en moins de 48 heures, une augmentation de la créatininémie $\geq 50\%$ en 1 à 7 jours ou une oligurie $< 0,5$ ml/kg/h sur 6 heures (Khwaja, 2012).

2.3. Insuffisance rénale chronique (IRC)

L'IRC est définie par un DFG ≤ 60 ml/min/1.73m² pendant plus de 03 mois avec ou sans marqueurs de la maladie rénal chronique (3ème stade de MRC) L'insuffisance rénale chronique est la résultante de la perte progressive des fonctions des reins. Elle est la conséquence commune de la réduction du parenchyme rénal fonctionnel au cours de maladies très diverses affectant les reins ou les voies excrétrices. Les altérations biochimiques sanguines apparaissent précocement et se majorent peu à peu avec la réduction de la masse néphronique active, le maintien de l'homéostasie n'est plus possible (Jungers et al.2011).

Partie
Expérimentale

Chapitre N°1

Matériel et méthodes d'analyse

I. Matériel et méthodes d'analyse

I.1 Matériel

Feuilles d'*Origanum Majorana* : ont été achetées du marché de Guelma. Après l'achat, Matériel végétal était débarrassé des débris. Puis a été broyé et Stocker les échantillons dans des flacons.

Bisphénol A : [$>99.0\%$]

I.2 Criblage phytochimique

Des tests en tube ont été réalisés sur la poudre végétale afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans la plante analysée. Le criblage phytochimique consiste à été réalisé des tests qualitatifs, basés sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe des principes actifs. En effet, la première étape était la recherche de grandes classes de composés chimiques appartenant aux métabolites secondaires de la plante étudiée (**Trease et Evans, 1987**). On peut citer les principales classes des composés chimiques, telle que : les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannis), les alcaloïdes, les saponosides et les coumarines...etc.

I. 2.1. Mise en évidence des flavonoïdes

À 3 g de la poudre végétale ont été ajoutés à 75 ml d'eau distillée, le mélange était porté à ébullition pendant 15 minutes. Puis filtré et laisser refroidir (**Mbodj, 2003**).

Coloration par le perchlorure de fer ($FeCl_3$)

Les flavonoïdes faut de la présence de fonctions phénoliques dans leur génies, les flavonoïdes donnent des colorations variées avec des diluées de $FeCl_3$. 2 à 3 gouttes d'une solution de $FeCl_3$ diluée à 2% ont été ajoutées à 2 ml de solution extractive. L'apparition d'une coloration verdâtre, indique que le test est positif (**Mbodj, 2003**).

I.2.2. Mise en évidence des saponosides

À 100 ml d'eau distillée bouillante ont été ajoutés 1 g de la poudre végétale, le mélange était maintenu un quart d'heure et après filtration le filtrat a été ajusté à 100ml.

1ml du décocté à 10% a été ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée, le mélange était agité verticalement puis laisser reposer pendant 15 min. L'apparition d'une mousse qui dure quelque instant indique la présence des saponosides. (Karumi et al., 2004)

I.2.3. Mise en évidence des tanins

5 g de poudre ont été suspendus dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 min, le mélange était filtré puis le filtrat a été ajouté 100 ml avec de l'eau distillée. Il a été introduit 5ml d'infusé à 5 % dans un tube à essais, puis il a été ajouté 1 ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (Edeoga1 et al, 2005).

I.2.3.1. Tanins catéchiques

À 5 ml de solution à 5% on ajoute 5 ml de l'HCl concentré. L'ensemble était porté à ébullition pendant 15mn puis filtré. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge (Edeoga1 et al, 2005).

I.2.3.2. Tanins galliques : réaction de stiasny

À 30 ml de solution à 5% ont été additionnés 15 ml de réactif de stiasny, après chauffage au bainmarie à 90°C pendant 15 mn et filtration le filtrat a été saturé par 5 g d'acétate de sodium. Ensuite, il a été ajouté 1 ml d'une solution de FeCl_3 (à 1%), l'apparition d'une teinte bleu noire montre la présence de tanins galliques non précipité par réactif de stiasny (Edeoga1 et al, 2005).

I.2.4. Mise en évidence des mucilages

À 1 ml du décocté à 10 % ont été ajoutés 5 ml d'éthanol absolu. Après une quelques minutes, l'obtention d'un précipité floconneux dans le mélange, indique la présence de mucilages (Karumi et al, 2004).

I.2.5. Mise en évidence des coumarines

1 g de la poudre végétale dans un tube à essais, on le recouvert le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et on place dans un bain-marie pendant quelques minutes. On ajoute 0,5 ml de NH_4OH (10%), on met deux taches sur un papier filtre et on examine sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (Rizk, 1982).

I.2.6. Mise en évidence des glycosides

5 g de plante ont été additionnés à 50 ml d'une solution de l'acide tartrique 2% dans l'éthanol, le mélange a été chauffé durant 2 h, après filtration et lavage par l'éthanol, le mélange a été introduit dans l'eau chaude après une deuxième filtration, il a été ajouté 2 gouttes de liqueur de Fehling à 2 ml du filtrat, le chauffage au cours de la réaction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides (Chaouch, 2001).

I.2.7. Mise en évidence des alcaloïdes

10 g de poudre végétale séchée ont été ajoutés 50 ml de H₂SO₄ à 10 %. Après agitation pendant 30 minutes, le macérat a été laissé pendant 24 heures à température ambiante, puis filtré sur papier filtre le volume est complété à 50 ml avec de l'eau distillée. À 1 ml de filtrat ont été additionnés 5 gouttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes a été indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre. (Edeoga1 et al., 2005).

I.3. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique

La méthode utilisée est celle décrite par Bruneton(1999). Elle est basée sur le degré de solubilité des molécules dans les solvants modifiés. 60 g de drogue végétale ont été mélangés au méthanol à 85%. L'extraction a été réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Après une double filtration sur un papier filtre, les filtrats ont été évaporés à l'aide d'un rota vapeur (BUCHI –zwitzerbland) et à 45°C les extraits ont été ensuite conservés à froid jusqu'à leur utilisation (Fadili, 2015).

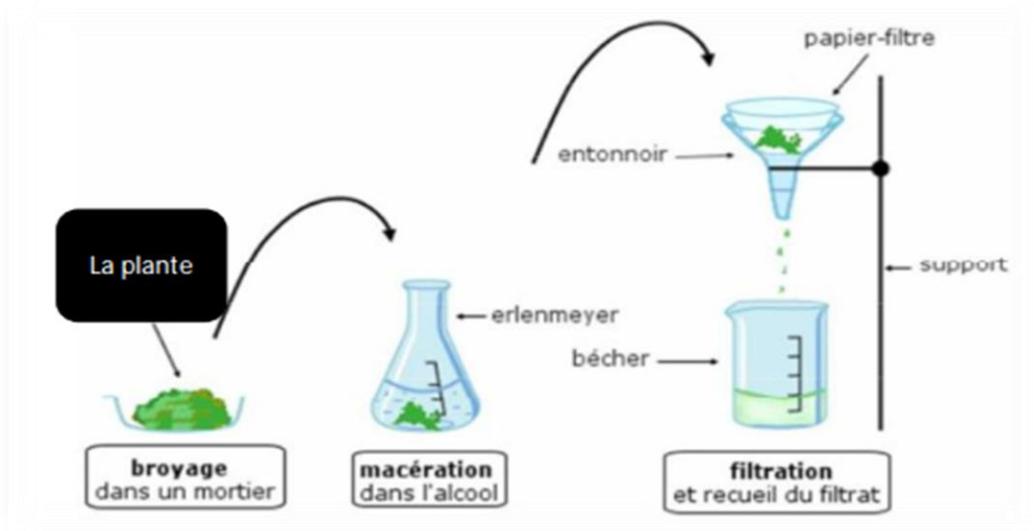


Figure09 : Etapes de la macération (Florent, 2016).

I.4. Traitement des rattes

Après la période d'adaptation, les rattes ont été réparties en quatre lots expérimentaux à raison de quatre rattes par lot. La durée était de dix jours et le traitement était comme suit :

Lot N 01 : Utilisé comme témoins négatifs, elles ont été injecté par 0.1ml d'éthanol.

Lot N 02 : Au 9eme jours, les rattes ont reçu par voie intra péritonéale 841(mg/kg) du bisphénol A

Lots03 : Groupe supplémenté par gavage avec (400mg/kg/) de l'extrait hydro-méthanolique d'*Origanum majorana*.

Lots 04 : lot ayant reçu par gavage (400mg/kg/jour) de l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine une avec concomitante 'injection intrapéritonéale de 841(mg/kg) du bisphénol A.

I.5. Sacrifice des animaux et prélèvement des reins

Au dixième jours du traitement, les animaux ont été sacrifiés, et les reins ont été prélevés soigneusement, rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl 0.9%), puis ils ont été pesés. L'un a congelé à (-20 °C) pour les dosages tissulaires des paramètres du stress oxydatif (MDA, GSH) et le dosage des protéines totales tissulaire et l'autre a été fixé dans la solution de formol tamponné 10% pour l'étude histologique.



Figure 10: Dissection et prélèvement des organes (reins) (photos originales)

I.6. Préparation de l'homogénat

1 g du rein ont été coupés et homogénéisés avec 10 ml du tampon phosphate NaH_2PO_4 (0,1 M à pH 7,4) l'homogénat était centrifugé à 2000 tours pendant 15 min à 4°C pour éliminer les débris cellulaires. Le surnageant obtenu de la première centrifugation été centrifugé une autre fois à 9600 tour/min) pendant 30 min à 4 °C. Le surnageant final été destiné pour le dosage des protéines totales tissulaires, du MDA, et du glutathion réduit.

I.7. Détermination des paramètres du stress oxydatif (GSH et MDA)

I.7.1 Dosage des protéines totales tissulaires

I.7.1.1 Principe de la méthode du dosage

Bradford et al., (1976) ont développé une méthode basée sur l'adsorption du colorant le bleu de Coomassie G250. En milieu méthanolique acide, ce colorant s'adsorbe sur les protéines et cette complexation provoque un transfert de son pic d'adsorption qui passe du rouge au bleu. Cette adsorption se fait principalement par des liens ioniques avec

des acides aminés basiques (arg, his, et lys) et des interactions hydrophobes (acides aminés hydrophobes). C'est une méthode très sensible (2-5 µg de protéines) et très rapide. Elle est aussi assez résistante à la plupart des interférents qui nuisent à la plupart des autres méthodes. (Bradford et al, 1976).

I.7.1.2 Préparation de la solution du réactif de Bradford

0,1 g de coomassie brillant bleu G-250 ont été dissoutes dans 50 ml d'éthanol à 95%. Il a été ajouté 100ml d'acide phosphorique à 85%..le tous a été agité et le mélange a été complété à 1 litre par l'eau distillée. La filtration a été effectuée deux à trois fois à l'aide d'un papier filtre Whatmann n ° 1 juste avant son utilisation.

I.7.1.3 Calcule de la concentration en protéines

La densité optique obtenue était rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines dans l'homogénat était déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine bovine (BSA) (0.2-1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.

I.7.2. Dosage du MDA cytosolique

La détermination de la concentration du MDA au niveau de la fraction cytosolique a été réalisée par la méthode (Ohkawa et al, 1979). L'acide Thio barbiturique (TBA) a été utilisé. En effet, la détection du MDA présenté dans les échantillons biologiques est basée sur la réaction au cours de laquelle, une molécule de MDA en milieu acide (pH 2 à 3) à chaud (100°C) a condensé avec deux molécules de TBA pour former un complexe coloré en rose (figure 14) susceptible d'un dosage spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 532$ nm.

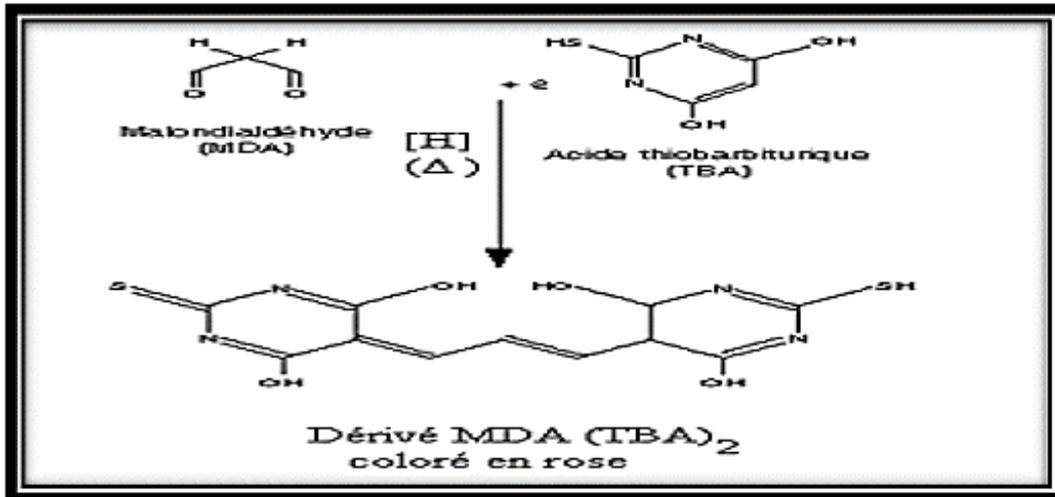


Figure 11 : Principe du dosage de malonaldaldéhyde (Laguerre et al. 2007).

Pour ce dosage, un mélange réactionnel a préparé Il est constitué de : 500 μ l de l'homogénat des reins, 500 μ l du TCA (20%) et 1000 μ l du TBA (0.67% dans NaOH 50 mM). Le rein était chauffé à 100°C pendant 15 min puis refroidi sous l'eau de robinet ont été ajoutés 4 ml de n-butanol et après une centrifugation de 15 minutes à 3000 rpm, la densité optique du surnageant était déterminée à 532 nm. Le taux du MDA est estimé par la formule suivante : $DO = \xi * L * c$.

ξ : coefficient d'extinction molaire du MDA ($1.53 * 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

L : longueur du trajet optique (1 cm).

C : concentration de la MDA en mol/mg de protéine.

I.7.3 Dosage du glutathion réduit (GSH)

I.7.3.1 Principe du dosage

En présence du DTNB le GSH forme un complexe est libéré de TNB (Weckbecker et al, 1988). la réaction représentée dans la figure.

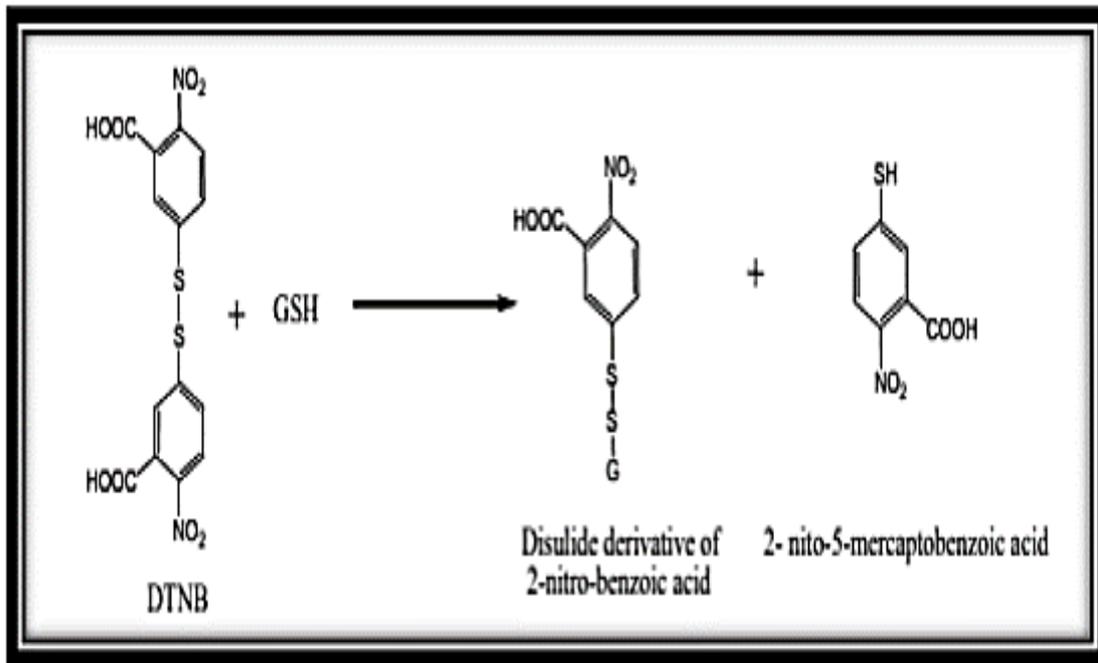


Figure12 : Principe du dosage du GSH (Sedlak et Rayond ,1967).

I.7.3.2 Procédure expérimentale

0.375 g de SAA ont été homogénéisés dans 150 ml d'eau distillée. le mélange était agité . 800 µl étaient additionnés à 200 µl du l'acide salicylique. Le mélange était laissé reposer pendant 15 minutes à froid, puis centrifugé à 1000 tour/5min, Puis 500µl de surnagent ont été ajouté à 1ml de solution tampon et 25 µl de DTNB, après 5 minutes la densité optique était déterminée à 412 nm.

Chapitre N°2

Résultats et discussion

Résultats & Discussion

I. Résultats

I.1. Screening phytochimique

Les tests photochimiques qui ont été réalisés sur la poudre végétale d'*Origanum Majorana* ont permis de mettre en évidence la présence de certains groupes et l'absence d'autres métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes. La détection de ces composés chimiques était basée sur des essais des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 02: Criblage phytochimique d'*Origanum Majorana*

Groupe chimique	Absence(–) ou Présence(+)
Flavonoïde	+
Saponosides	+
Tanins	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	-
Mucilage	+
Coumarines	-
Alcaloïdes	-
Glycosides	+

Absence –

Présence +

Les résultats expérimentaux de tests phytochimiques illustrés dans le tableau si dessus ont révélé la présence de flavonoïdes, de tanins, de saponosides, de mucilages et de glycoside. Cependant, l'absence de tanins galliques, de coumarines et des alcaloïdes.

Ces résultats concordent avec ceux d'**Al-Howirini, 2009** et **Vasudeva, 2015** qui montrent la présence et l'absence des mêmes groupes chimiques dans la plante étudiée. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de plante étudié explique leur fort

pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante en médecine traditionnelle par la population locale. Effectivement, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides possèdent plusieurs propriétés bénéfiques pour la santé notamment les propriétés antioxydante, anti inflammatoires et anti-inflammatoires (Bouhaddouda et Labiod, 2016).

I.2. Détermination des paramètres

Effet du traitement par l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine et le BPA sur le MDA et le GSH rénale.

La détermination du taux en protéines totales, en glutathion réduit et en malondialdéhyde ont été déterminé dans l'homogénat préparé à partir des reins.

Tableau 03 : Concentrations tissulaire du MDA et du GSH rénale chez le groupe témoin et les lots expérimentaux (moyenne \pm *ecart type*)

<i>lots</i> <i>paramètres</i>	<i>Témoin</i>	<i>Extrait</i> <i>(400mg/kg)</i>	<i>BPA</i> <i>(841mg/Kg)</i>	<i>Extrait +BPA</i> <i>(400mg/kg) et</i> <i>(841mg/Kg)</i>
<i>Protéine mg /ml</i>	0.68 \pm 0.01	0.74 \pm 0.02	0.76 \pm 0.03	0.80 \pm 0.01
<i>MDA μMol/g de</i> <i>prot</i>	2.50 \pm 0.01	2.58 \pm 0.01NS	25.30 \pm 0.04*	3.42 \pm 0.24*
<i>GSH μM/g de</i> <i>prot</i>	2.15 \pm 0.1	2.31 \pm 0.1	1.95 \pm 0.1	2.29 \pm 0.13

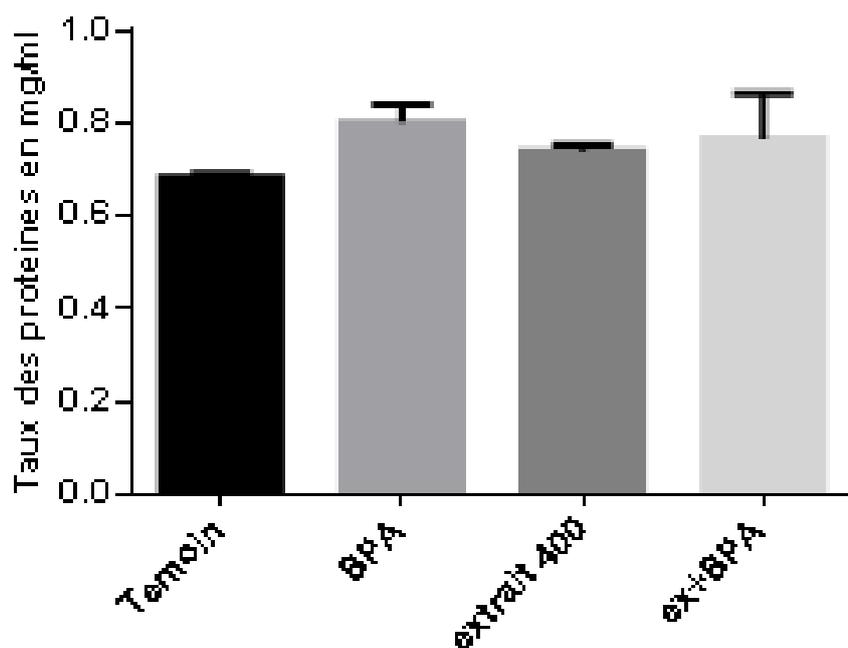


Figure 13 : Variations des concentrations en protéines totales tissulaires.

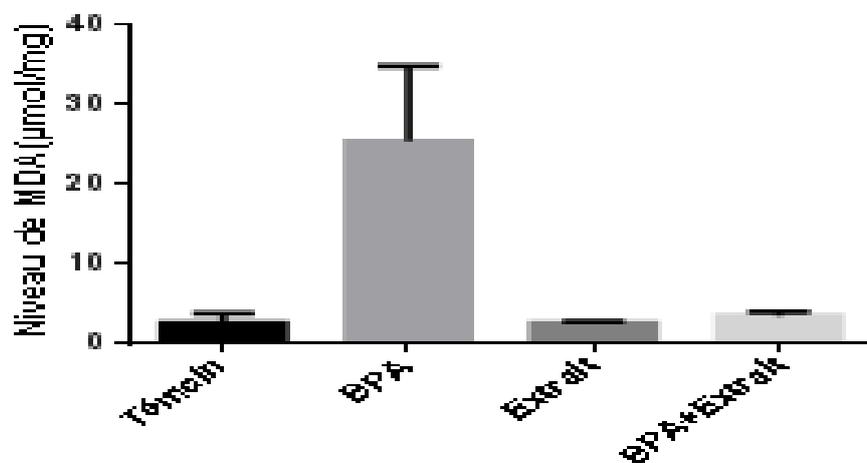


Figure 14: Variations des concentrations de MDA après traitement des rats par le BPA et l'extrait hydro méthanolique de la marjolaine.

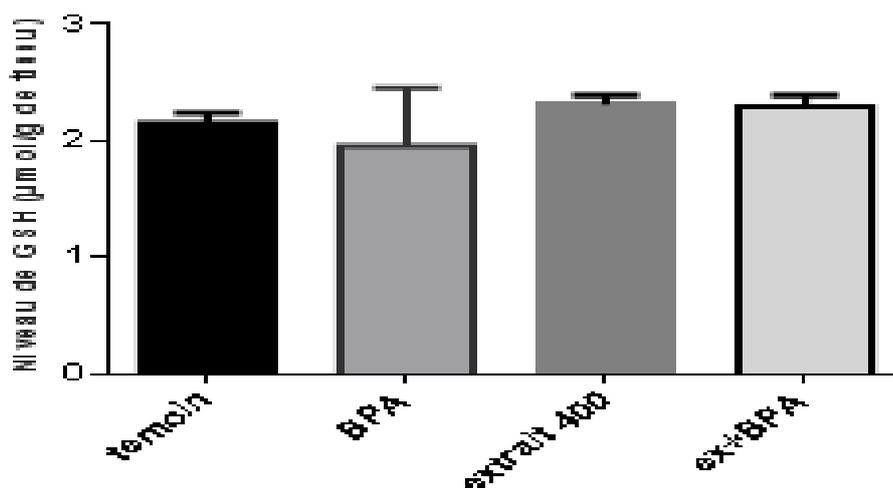


Figure 15 : Variations des concentrations de GSH après traitement des rats par le BPA et par l'extrait hydro méthanolique de la marjolaine.

Les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessus montrent qu'il n'existe pas de différences significatives entre les lots expérimentaux étudiés pour la concentration en protéines totales.

Pour le MDA, il a été enregistré une augmentation significative du taux MDA pour les rats traités par le bisphénol A. Néanmoins, aucune différence significative n'a été observée entre les autres groupes témoins. Par contre, des différences significatives ont été observées entre le lot traité par l'extrait et le lot traité par la combinaison des deux.

En ce qui concerne la teneur en glutathion réduit (GSH), il a été observé une diminution non significative chez les rats traités par le BPA, la supplémentation par l'extrait hydro-méthanolique tend à normaliser le taux du glutathion. (Différences non significatives).

2. Discussion

La toxicité du BPA a été associée au stress oxydatif et aux marqueurs associés dans plusieurs modèles expérimentaux. De plus en plus de preuves ont été montrées que la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et/ou la diminution de la capacité de défense antioxydante contribuent de manière significative à la toxicité des organes du BPA, altérant l'équilibre oxydatif généralement dans la cellule et précisément dans les mitochondries (Meli et al, 2020). Le BPA avec ses deux noyaux phénoliques a un mode de liaison à ER α et β

similaire à celui de l'œstradiol (E2). Cependant son affinité est 10 000 fois plus faible que celle de l'œstradiol et est similaire pour les deux récepteurs (**Adamo et al, 2010**).

Il s'agit d'un xénoestrogène, qui imite l'action des œstrogènes naturels et entraîne des conséquences néfastes pour la santé. Outre son activité oestrogénique, il a été démontré que le BPA dérégule les cytokines et induit stress oxydatif dans le cerveau, le foie et les reins. (**Poormoosavi et al, 2018**).

Les extraits bruts de plantes commencent à voir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules bioactives où les plantes et leur extraits sont utilisés étant leur propriétés biologiques, elles sont les sources primaires de médicaments employés pour lutter contre différentes pathologies. *Origanum majorana* est l'une des plantes aromatiques les plus utilisées en phytothérapie et ce contexte que s'inscrit la présente. Il s'agit de la première étude qui vise à évaluer le pouvoir antioxydant de l'extraits hydro_méthanolique de la marjolaine et de sa capacité de protéger les tissus rénaux contre les dommages tissulaires qui peuvent être causés par la production excessive des espèces réactives de l'oxygène et des produits de peroxydation lipidiques lors de la néphrotoxicité induite par le BPA.

L'augmentation du taux en protéines tissulaire est suite à une augmentation des effets délétères du BPA, cette richesse en protéine est due à une production excessive des enzymes et des molécules à effet antioxydant. La teneur en protéines totales ne peut pas indiquer les dommages liés aux BPA. Il est intéressant de procéder à un dosage en carbonyl content.

il a été rapporté que de nombreux xénobiotiques perturbaient l'équilibre oxydant/antioxydant des cellules en induisant un stress oxydatif (**Ho et al., 1998**). Les taux du MDA et du GSH ont été mesurés pour indiquer le stress rénal induits par ce xénobiotique .

La présente étude a révélé une augmentation significative du taux de MDA pour les rats traités par le BPA par rapport aux lots expérimentaux.

Ce résultat concorde avec celui de (**Korkmaz et al ,2009**) qui trouvent que le MDA s'est avéré élevé aux des reins pour des rats injecté par le BPA.

Haroun et al démontrent que le BPA induit un stress oxydant au niveau reins, ceci se traduisait par l'augmentation du taux de MDA. Ce perturbateur endocrinien est de nature lipophile, il peut donc facilement pénétrer et interagir avec les lipides de la

membrane cellulaire et entrainer la production des espèces réactives d'oxygène ce qui induit une altération et déséquilibre du potentiel de la cellule causant la peroxydation des lipides. Nos résultats suggèrent aussi que l'extrait méthanolique de la marjolaine induit un effet antioxydant. De plus, les composés phénoliques ont été associés à une activité antioxydante et jouent un rôle important dans la stabilisation de la peroxydation lipidique, Les capacités antioxydantes des flavonoïdes en tant que piègeurs de radicaux libres peuvent être définies comme la capacité à donner des atomes d'hydrogène de leurs groupements hydroxyles ce qui empêche la peroxydation lipidique (Seyoum et al, 2006). A cet effet la consommation de cette plante peut conduire à la protection des tissus contre les dommages suscités

Le glutathion (GSH) est le thiol de faible masse moléculaire le plus abondant dans les cellules et l'un des principaux composés antioxydants dans les fluides corporels. Dans des conditions pro-oxydantes, deux molécules de GSH donnent un électron chacun et sont convertis en disulfure de glutathion (GSSG) (Giustarini et al ,2016). Il s'agit d'une molécule antioxydante qui participe au maintien de la structure et de la fonction normale des cellules, l'augmentation sur taux de ce tripeptide chez les rattes traité par l'extrait (400 ml/kg) par rapport au témoin illustre que l'extrait de la plante étudiée renforce le système antioxydant.

Les résultats obtenus été montrés une diminution non significative du taux de GSH réduit dans les rats traité par BPA par rapport au témoin, ceci est expliqué par son utilisation pour lutter contre le stress induite par BPA, car il participe dans les réactions de détoxification des espèces réactives de l'oxygène ; il est alors transformé en sa forme oxydée (GSSG) sous l'effet de la GPx ceci entraine sa consommation.

Pour les lots traités par l'extrait de plante et le lot traité par l'extrait et le BPA une légère augmentation a été enregistré ce ci pourrait être du à l'effet exercé par l'extrait de plante sur la synthèse de novo du glutathion, à sa régénération ou au deux. Ces résultats confirment les données de la littérature qui annoncent que la marjolaine possède une activité anti oxydante reposant sur l'élimination des radicaux libres et La restauration de la balance pro oxydant anti oxydant.

Conclusion

Conclusion :

L'usage des plantes médicinales constitue un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la médecine est très accentuée dans ces dernières années grâce à leurs effets thérapeutiques qu'elles exercent et ceci est certainement lié à la présence des molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

Notre étude a été consacrée à l'effet protecteur de *origanum majorana* contre la néphrotoxicité induite par bisphénol A.

L'administration intrapéritonéale de bisphénol A à dose (840mg/Kg) pendant 10 jours a provoqué une perturbation des paramètres de la fonction rénale chez les rats. Cette perturbation représenté une consommation cellulaire forte du glutathion réduit (GSH) dans et a augmentation significative dans le taux de MDA dans les tissus rénaux. ce qui génère un état de stress oxydant.

L'administration orale de l'extrait de *origunam majorana* l'a fait diminuer le niveau de la toxicité, en modulant les niveaux des biomarqueurs de stress diminution de la concentration du MDA, et aussi une diminution du glutathion réduit (GSH) dans les reins. Cette combinaison a aussi révélé une amélioration du taux de protéine totale.

La marjolaine possède des activités antioxydantes importantes due à sa richesse en flavonoïdes. Notre étude avait comme un objectif d'évaluation de l'effet protecteur de l'extrait méthanolique de la marjolaine contre la néphrotoxicité aiguë du BPA chez les rats.

La non signification est probablement liée à

1. La durée du traitement.
2. Taille de la population étudiée (nombre de rats / lot).

Résumé

La marjolaine est une plante médicinale très utilisée pour traiter des différentes maladies grâce à ses activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante, antiseptique et anti-hypertension). Le présent travail étudie le rôle de l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine contre la néphrotoxicité induite par le BPA. Pour cela, un screening photochimique de la plante a été réalisé en se basant sur des réactions de précipitation et de changements de couleurs. Une néphrotoxicité a été induite par le BPA et une supplémentation a été faite par la marjolaine. Les résultats obtenus illustrent la présence de certains groupes ethniques (Polyphénols, Tannins catéchiques, Flavonoïdes, Saponosides, mucilage et glycosides) et l'absence d'autres groupes à savoir les alcaloïdes, tannins galliques et coumarines. Après 10 jours de traitement, une augmentation significative du taux du MDA a été enregistrée avec concomitante diminution non significative du taux du glutathion réduit pour les lots traités par l'extrait de plante seule et l'extrait et le BPA, les valeurs étaient presque normales. Ceci est devenu l'effet protecteur de l'extrait préparé à partir de cette plante contre la néphrotoxicité induite par le BPA.

Mots clés : Néphrotoxicité, BisphénolA, l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine.

Abstract

Marjoram is a medicinal plant widely used to treat various diseases thanks to its biological activities (antimicrobial, antioxidant, antiseptic and anti-hypertension). The present study aims to illustrate the role of the hydro-methanolic extract of marjoram against the nephrotoxicity induced by BPA. For this photochemical screening of the plant was carried out based on precipitation reactions and color changes. Nephrotoxicity was induced by BPA and supplementation was made with marjoram. The results obtained illustrate the presence of certain ethnic groups (polyphenols, catechin tannins, flavonoids, saponosides, mucilage and glycosides) and the absence of other groups, namely alkaloids, gallic tannins and coumarins. After 10 days of treatment, a significant increase in the level of MDA was recorded with a concomitant non-significant decrease in the level of reduced glutathione for the batches treated with the plant extract alone and the extract and BPA, the values were almost normal. This became the protective effect of the extract prepared from this plant against BPA-induced nephrotoxicity.

Key words: Bisphénol A, Nephrotoxicity, hydro-methanolic extract of marjoram.

ملخص

البردقوش نبات طبي يستخدم على نطاق واسع لعلاج الأمراض المختلفة وذلك بفضل أنشطته البيولوجية (مضاد الميكروبات، مضاد الأكسدة، مطهر، مكافحة لارتفاع ضغط الدم). تهدف الدراسة الحالية إلى توضيح دور المستخلص الكحولي لنبات البردقوش ضد السمية الكلوية التي يسببها البسفينول أ. تم إجراء الفحص الكيميائي النباتي لمسحوق البردقوش بناءً على تفاعلات الترسيب وتغير اللون. تم إحداث السمية الكلوية بواسطة البسفينول أ وتم عمل مكملات من البردقوش. النتائج التي تم الحصول عليها توضح وجود مجموعات عرقية

(Polyphénols, Tannins catéchiques, Flavonoïdes, Saponosides, mucilage et glycosides)

وغياب مجموعات أخرى (les alcaloïdes , tannins galliques et coumarines)

بعد 10 أيام من العلاج تم تسجيل زيادة كبيرة في مستوى MDA ويصاحبه انخفاض في مستوى GSH للمجموعات المعالجة للمستخلص النباتي وحده والمستخلص و البسفينول أ كانت القيم تقريبا عادية. هذا هو التأثير الوقائي للمستخلص المحضر من هذا النبات ضد السمية الكلوية التي يسببها البسفينول أ. الكلمات المفتاحية : البسفينول أ , السمية الكلوية, المستخلص الكحولي لنبات البردقوش .

*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques



Abid, M., Bouallala, M., & Bradai, L. (2014). Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, Vol.7n°2 (2014), 16 – 24p.

Adamo, C., Antignac, J. P., Auger, J., Balaguer, P., Bourc'his, D., Bujan, L., & Slama, R. (2011). *Reproduction et environnement* (Doctoral dissertation, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM)) P 309.

Adimi, L. Z. (2018). *Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la mélisse (Melissa officinalis)* (Doctoral dissertation), Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 39-40.

Aiboud, K. (2012). *Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé Callosobruchus maculatus (Coleoptera: Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des graines de Vigna unguiculata (L.) Walp* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Al-Howiriny T., Protective Effect of *Origanum majorana* L. 'Marjoram' on Various Models of Gastric Mucosal Injury in Rats. *Medical and life sciences*. Volume: 37, Issue: 3 (2009) pp. 531-545.

Ali Giannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9), 4168-4170.

Azzi, R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'ouest algérien : enquête ethno pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat WISTAR. *Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen*. 30p.

Références Bibliographiques

B

Baser, K. H. C. (1995, October). Essential oils from aromatic plants, which are used as herbal tea in Turkey. In *Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils* (Vol. 2, pp. 15-19).

Bechlem h, 2018 Etude Phytochimique et Biologique de Deux Plantes Médicinales Algériennes université des freresmentouricostantine. 3p.

Beddou, F. (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes Rumex vesicarius L. et AnvillearadiataCoss. &Dur.Doctoral dissertation, Université aboubekrbelkaid p 17.

Belhattab, R. (2018). *Composition Chimique et ProprietesAntioxydantes, Antifongiques et Antiaflatoxinogenes d'extraits d'OriganumglandulosumDesf. et Marrubiumvulgare L.(Famille des Lamiaceae)* (Doctoral dissertation), Université Ferhat Abbas Sétif, p 33 .

Bina, F., &Rahimi, R. (2017). Sweet marjoram: a review of ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities. *Journal of evidence-basedcomplementary& alternative medicine*, 22(1), 175-185.

Bonaccorsi, L., Nosi, D., Quercioli, F., Formigli, L., Zecchi, S., Maggi, M., ...&Baldi, E. (2008). Prostate cancer: a model of integration of genomic and non-genomic effects of the androgen receptor in cell lines model. *Steroids*, 73(9-10), p1030-1037.

Botineau, M. (2010). Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs, Tech. *Et Doc (eds)*, 1335.

Bounihi, A. (2016). *Criblage phytochimique, Étude toxicologique et valorisation pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentharotundifolia (Lamiacées)* Doctoral dissertation. 19p.

Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y., N. Dakka.(2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'Origanumcompactum. *Phytothérapie* : 1-5.

Bouzouita, K.(2016). *Phytovigilance: enquête auprès des pharmaciens officinaux d'Oujda* (Doctoral dissertation) p48.

Références Bibliographiques

Bradford M., 1976. Anal. Biochem. 72, Description originale de la méthode de Bradford, 248-254.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3^{ème} Ed. Paris. France. 1120p.

C

Chaabani, E. (2019). *Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de Pistacia lentiscus* Doctoral dissertation, Université d'Avignon ; Université de Carthage (Tunisie). 26p.

Chandra Sekhar, J., Sandhya, S., Vinod, K.R., David Banji, Sudhakar, K., and Chaitanya, R. (2012). Plant toxins-useful and harmful effects. Hygeia.J.D.Med, 4 (1), 79-90p.

Chaouch N, (2001). Etude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N°39 ; sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla, 44p.

Chikhoun, A. (2007). *Huiles essentielles de thym et d'origan* (Doctoral dissertation, INA).

Cho, C. Y., Shin, B. S., Jung, J. H., Kim, D. H., Lee, K. C., Han, S. Y., ... & Yoo, S. D. (2002). Pharmacokinetic scaling of bisphenol A by species-invariant time methods. *Xenobiotica*, 32(10), p925-934.

Collet, S. (2012). Développement d'une approche toxicocinétique/toxicodynamique basée sur des mécanismes physiologiques pour évaluer les effets oestrogéniques du Bisphénol A (Doctoral dissertation).

Collet, S. H., Picard-Hagen, N., Lacroix, M. Z., Puel, S., Viguié, C., Bousquet-Melou, A., & Gayrard, V. (2015). Allometric scaling for predicting human clearance of bisphenol A. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 284(3), p323-329.

Csanády, G., Oberste-Frielinghaus, H., Semder, B., Baur, C., Schneider, K., & Filser, J. (2002). Distribution and unspecific protein binding of the xenoestrogens bisphenol A and daidzein. *Archives of toxicology*, 76(5), p 299-305.

Références Bibliographiques

D

Déchaud, H., Ravard, C., Claustrat, F., de la Perrière, A. B., & Pugeat, M. (1999). Xenoestrogen interaction with human sex hormone-binding globulin (hSHBG) 1. *Steroids*, 64(5), p328-334.

Doerge, D. R., Twaddle, N. C., Vanlandingham, M., & Fisher, J. W. (2010). Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult Sprague-Dawley rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 247(2), p158-165.

Doerge, D. R., Twaddle, N. C., Woodling, K. A., & Fisher, J. W. (2010). Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult rhesus monkeys. *Toxicology and applied pharmacology*, 248(1), p1-11.

Dridi, F. (2015). *Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques: Application du tannage et test biologiques* Doctoral dissertation, Boumerdès. 7p.

Dubois, J., Mitterand, H., & Dauzat, A. (1993). Dictionnaire étymologique et historique du français.

Durczak, E. (2020). Recours à la phytothérapie en médecine générales : étude quantitative auprès des médecins généralistes de Côtes-d'Armor, Ille-et-Vilaine et Morbihan, Thèse en vue du diplôme d'état de docteur en médecine, Université de Rennes 1. 10 11p.

E

Edeogal H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O (2005). Phytochemical constituents of some.

El Kalamouni, C. (2010). *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées* (Doctoral dissertation), Université de Toulouse, p 61.

Emeraux, E. (2019). *Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante* Doctoral dissertation, Université de Lorraine. 11p.

Emond, C., Belzunces, L., Antignac, J. P., Bertrand, N., Blanchard, O., Clauw, M., ... & Viguie, C. (2011). Effets sanitaires du bisphenol A, p382.

Références Bibliographiques

F

Fadili K., Zerkani H., Amalich S et Zair T. (2015). ETUDE Phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante des feuilles et des fruits du Capparis spinosa L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences.; 5(2):108-118.

Farbos, M. (2012). Toxicocinétique comparée du bisphénol A chez cinq espèces et extrapolation de l'animal à l'homme (Doctoral dissertation).

Ferdjoui, S. (2020). *Activités biologiques de deux plantes médicinales Mentharotundifolia L. et Lamium amplexicaule L* (Doctoral dissertation), Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 04-06.

Figueredo, G. (2007). *Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

Florent, Tahou Sekpa. (2016). Procédures d'extraction globale des composés phytochimiques pour l'évaluation analytique des médicaments à base des plantes. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie.

Fuinel, G. (2002). *Arbres et plantes médicinales du jardin*. Fernand Lanore. 18p.

G

Gayraud, V., Lacroix, M. Z., Collet, S. H., Vigié, C., Bousquet-Melou, A., Toutain, P. L., & Picard-Hagen, N. (2013). High bioavailability of bisphenol A from sublingual exposure. Environmental health perspectives, 121(8), p951-956.

Ghnimi, W. (2015). *Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae: Ricinus communis et Jatropha curcas. Évaluation de leur propriété antioxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Giustarini, D., Tsikas, D., Colombo, G., Milzani, A., Dalle-Donne, I., Fanti, P., & Rossi, R. (2016). Pitfalls in the analysis of the physiological antioxidant glutathione (GSH)

Références Bibliographiques

and its disulfide (GSSG) in biological samples: An elephant in the room. *Journal of Chromatography B*, 1019, 21-28.

Gondin, C.(2016). Évaluation de l'absorption vésicale du bisphénol a et du bisphénol A-glucuronide chez la brebis (Doctoral dissertation) p18.

H

Haroun, M. R., Zamzam, I. S., Metwally, E. S., & EL-Shafey, R. S. (2019). Effect of vitamin c on bisphenola induced hepato& nephrotoxicity in albino rats. *The Egyptian Journal of Forensic Sciences and Applied Toxicology*, 16(Supplement), 57-85.

Harrag, A. (2020). *Etude ethnobotanique et pharmacognosique des plantes médicinales de l'Algérie* Doctoral dissertation, Université de Sétif 1-Ferhat Abbas. 23p).

Ho, Y.S., Magnenat, J.L., Gargano, M. and Cao, J. (1998). The nature of antioxidant defense mechanisms: A lesson from transgenic studies. *Environ Health Perspect* 106:1219–1228.

I

Inoue, H., Yokota, H., Makino, T., Yuasa, A., & Kato, S. (2001). Bisphenol A glucuronide, a major metabolite in rat bile after liver perfusion. *Drug metabolism and disposition*, 29(8), p1084-1087.

INRS. (2021) Fiche toxicologique n°229- Bisphénol A.

INSERM. (2010), Bisphénol A effets sur la reproduction, rapport préliminaire d'expertise collective. P 90.

J

Jungers, P., Man, N. K., Joly, D., & Legendre, C. (2011). L'insuffisance rénale chronique: prévention et traitement. Lavoisier (paris) p1.

Références Bibliographiques

K

Kada, S. (2018). *Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques* (Doctoral dissertation), Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 15-16.

Karumi Y., Onyeili P.A., Ogugbuaja V.O., (2004). Identification of active principal of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf exact. *J Med Sci.* 4(3) :179-182.

Kazemi, S., Feizi, F., Aghapour, F., Joorsaraee, G. A., & Moghadammia, A. A. (2016). Histopathology and histomorphometric investigation of bisphenol A and nonylphenol on the male rat reproductive system. *North American journal of medical sciences*, 8(5), 215.

Kemassi, A., Darem, S., Cherif, R., Boual, Z., Sadine S, Aggoune M , Ould el hadj-khelilA & Ould el hadj m (2014), Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (Sahara septentrional Est Algérien) , *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 1(1), 1-5.

Khwaja, A. (2012). KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clinical Practice*, 120(4), 179-184.

Korkmaz, A., Aydogan, M., Kolankaya, D. and Barlas, N. (2009) Vitamin C coadministration augments bisphenolA, nonylphenol, and octylphenol induced oxidative damage on kidney of rats, *Environmental Toxicology*. PP.325- 337.

Koudou, P. J. Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes

Kuiper, G. G., Lemmen, J. G., Carlsson, B. O., Corton, J. C., Safe, S. H., Van Der Saag, P. T., ... & Gustafsson, J. A. (1998). Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology*, 139(10), p 4252-4263.

Kurebayashi, H., Betsui, H., & Ohno, Y. (2003). Disposition of a low dose of ¹⁴C-bisphenol A in male rats and its main biliary excretion as BPA glucuronide. *Toxicological Sciences*, 73(1), p17-25.

Références Bibliographiques

L

Labiod R. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *saturejacalamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide, thèse doctorat. Université Badji Mokhtar -Annaba.

Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in lipid research*, 46(5), 244-282.

Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in lipid research*, 46(5), 244-282.

Lakhrissi B., Barrahi M., Boukhraz M., El Hartiti H., El Mostaphi A, Ouhssine M.2015. Antibacterial effect of synergy of two essential oils extracted from marjoram (*origanummajorana*) in the region of salé and oregano (*origanumvulgare*) in the region of ouazzane, Morocco 10(9): 0974 – 7532.

M

Mahfouf, N. (2018). *Étude de l'espèce Origanumvulgare L* (Doctoral dissertation, Université Chadli Benjedid-El Tarf (Algérie)) p 24.

Mansouri, A. (2018). *Détermination du taux des oligoéléments sélénium et zinc dans le cheveu des patients atteints par le psoriasis au moyen de la spectrométrie par fluorescence X et de l'activation neutronique instrumentale* (Doctoral dissertation), Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 15-16.

Matthews, J. B., Twomey, K., & Zacharewski, T. R. (2001). In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors α and β . *Chemical research in toxicology*, 14(2), p149-157.

Mbojd N., (2003). Etude de l'activité antidiabétique des extraits acetonique, méthanolique et hescniques de *vernonia colorata* (willd/darke composées chez des ratswistar, Thèse de docteur en pharmacie, Université de Cheikh AntaDiop de Dakar : pp53.

Références Bibliographiques

Meli, R., Monnolo, A., Annunziata, C., Pirozzi, C., & Ferrante, M. C. (2020). Oxidative stress and BPA toxicity: An antioxidant approach for male and female reproductive dysfunction. *Antioxidants*, 9(5), 405.

Mielke, H., Partosch, F., & Gundert-Remy, U. (2011). The contribution of dermal exposure to the internal exposure of bisphenol A in man. *Toxicology letters*, 204(2-3), p190-198.

Moyse, H. (1971). Matière médicale, Tome III, Ed.

Muqaddas, R. A. K., Nadeem, F., & Jilani, M. I. (2016). Essential Chemical Constituents and Medicinal Uses of Marjoram (*Origanum majorana* L.)—A Comprehensive Review. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 9, 56-62.

N

Nasser H. R. A. A. (2018). Anti-Colon Cancer Effect Of *Origanum Majorana* Essential Oil. Memoire de Master, United Arab Emirates University, Emirates, P.28

Nigerian medicinal plants. *African Journal of biotechnology* Vol. 4(7). P : 685-68.

Noichri, Y. (2016). *Stress oxydant et infarctus du Myocarde* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay; Université de Monastir (Tunisie)), p 20.

nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent." *Analytical biochemistry* 25 (1968): 192-205.

Of antioxidant defense mechanisms: A lesson from transgenic studies. *Environ Health Perspect* 106:1219–1228.

O

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.

P

Références Bibliographiques

Poormoosavi, S. M., Najafzadehvarzi, H., Behmanesh, M. A., & Amirgholami, R. (2018). Protective effects of *Asparagus officinalis* extract against Bisphenol A-induced toxicity in Wistar rats. *Toxicology reports*, 5, 427-433.

Pottenger, L. H., Domoradzki, J. Y., Markham, D. A., Hansen, S. C., Cagen, S. Z., & Waechter Jr, J. M. (2000). The relative bioavailability and metabolism of bisphenol A in rats is dependent upon the route of administration. *Toxicological Sciences*, 54(1), p3-18.

Prerna, P., & Vasudeva, N. (2015). *Origanum majorana* L.-Phyto-pharmacological review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 6(4), 261-267.

R

Rizk A.M., (1982). Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*. 52(2): 35-42.

Rira, M. (2019). *Les tanins hydrolysables et condensés: une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical* Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne. 19p.

S

SAIDI, I. (2019). *Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives* (Doctoral dissertation). 9p.

Sari, M. (2018). *Étude biologique et phytochimique de l'origan *origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* Desf. (L'etswaart) espèce endémique d'Algérie-Tunisie* (Doctoral dissertation).

Sebai, M., & Boudali, M. (2012). La phytothérapie entre la confiance et la méfiance. *Mémoire professionnel infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA (Algérie)*.

Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25, 192-205.

Références Bibliographiques

Sedlak, Jozef, and Raymond H. Lindsay. (1968). "Estimation of total, protein-bound, and

Seyoum A, Asres K and El-FikyFK (2006) .Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* 67:2058–2070p.

Shimizu, K., Kontani, S., Yamada, S., Takahashi, G., Nihisyama, T., & Satsum, A. (2008). Synthesis of bisphenol-A from phenol and acetone using organic–inorganic modified heteropoly acid catalyst. In 18th Saudi Arabia–Japan Joint Symposium, Dhahran, Saudi Arabia.

T

Tamert, A. (2016). *Labiées des monts de Tessala (wilaya de Sidi Bel abbès): histologie et phytochimie* (Doctoral dissertation) p 36-37.

Taylor, J. A., VomSaal, F. S., Welshons, W. V., Drury, B., Rottinghaus, G., Hunt, P. A., ... & VandeVoort, C. A. (2010). Similarity of bisphenolA pharmacokinetics in rhesus monkeys and mice: relevance for human exposure. *Environmental health perspectives*, 119(4), p422-430.

Tohmé, M., Prud'homme, S. M., Boulahtouf, A., Samarut, E., Brunet, F., Bernard, L., ... & Laudet, V. (2014). Estrogen-related receptor γ is an in vivo receptor of bisphenol A. *The FASEB Journal*, 28(7), p3124-3133.

Tripathy B., Satyanarayana S., Abedulla Khan K., Raja K. (2017). An Updated Review on Traditional Uses, Taxonomy, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Origanum majorana* . *Int J Pharma Res Health Sci* 5 (4): 1717-1723.

V

Vandenberg, L. N., Chahoud, I., Heindel, J. J., Padmanabhan, V., Paumgarten, F. J., & Schoenfelder, G. (2010). Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environmental health perspectives*, 118(8), p1055-1070.

Références Bibliographiques

Vernex-Lozet, C. (2011). *Les possibilités de la phytothérapie en gériatrie canine* Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Lyon, France. 176p.

Völkel, W., Bittner, N., & Dekant, W. (2005). Quantitation of bisphenol A and bisphenolA glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*, 33(11), p1748-1757.

Völkel, W., Colnot, T., Csanády, G. A., Filser, J. G., & Dekant, W. (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical research in toxicology*, 15(10), p1281-1287.

W

Wartel, F., (2019) lesvegetaux toxiques a l'officine universiteclermont auvergne diplôme d'état de docteur en pharmacie, universiteclermont auvergne, 10p.

Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotidoreductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40(3), 257-264.

Z

Zerargui, F. (2018). *Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis L.* et caractérisation des substances bioactives* (Doctoral dissertation), Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 1

Annexes

1. Le bisphénol A: [$>99.0\%$]

Nom IUPAC : 2,2-Bis (4-hydroxyphenyl) propane

Formule : $C_{15}H_{16}O_2$

Masse molaire : 228,29 g/mol

Point de fusion : 158 °C

Solubilité : Éthanol, Alkali

2. L'extrait hydro-méthanolique d'*Origanum majorana*

Poudre végétale 150g

Méthanol 800ml

Eau distillée 200ml

3. Solutions utilisées

3.1 Solution HCl (1N) à 8%

HCl 8.17 ml

Eau distillé 91.83 ml

8.17 ml d'HCl sont ajoutées à 91,83 ml d'eau d'eau distillée

3.2 Réactif de MAYER

Iodure de potassium (KI) 25g

Chlorure mercurique ($HgCl_2$) 6.8g

Eau distillée 1000ml

3.3 Réactif de Stiasny

Formol 40% 10 ml

HCL concentré 5ml

3.4 Tompon phosphate (0.1 M PH=7.4)

Na_2HPO_4 (3.394g)

$H_2N_2O_4P \cdot 2H_2O$ (20.214g)

Annexes

4. Photo prises au cours du travail expérimental



A : Macération

B : Filtration



C : Séparation

Figure 01 : Les étapes d'extractions solides liquide (photo originale).

Annexes



Figure02 : l'extrait hydro-méthanolique d'*Origanum majorana*.



Figure03 : Administration d'extrait hydro-méthanolique d'*Origanum majorana* par gavage gastrique (photo originale).

Annexes



Figure04 : L'adaptation des rats (photo originale).