

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**  
**Scientifique**

**Université 8 Mai 1945 Guelma**  
**Faculté de Sciences de la Nature et de Vie et de Sciences de la Terre et de**  
**l'Univers**  
**Département de biologie**



**Mémoire**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**Master 2**

Option : **Biologie moléculaire et cellulaire**

**Intitulé**

**Activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique**  
**de l'espèce (*Origanum majorana*)**

**Présenté par :**

**Harrez NourElHouda**

**Afaifia Zahra**

**Benrdjem Dalila**

**Devant le jury**

**PRESIDENT**

**Dr. Merabet**

**MAA**

**Univ-Guelma**

**EXAMINATEUR**

**Dr. Drif**

**MCB**

**Univ-Guelma**

**Encadreur**

**Dr. Ayed**

**MCB**

**Univ-Guelma**

**Session Juillet 2019**

# Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste d'abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1

## *Première partie : Synthèse bibliographique*

### *Chapitre N° 1 : Phytothérapie*

1. Généralités sur la phytothérapie .....	3
2. Plantes médicinales.....	3
3. Totum.....	3
4. Utilisation des plantes médicinales.....	4
5. Métabolites des plantes.....	4
5.1. Métabolites primaires.....	5
5.1.1. Glucides.....	5
5.1.2. Amidon .....	5
5.1.3. Lipides.....	5
5.2. Métabolites secondaires.....	5
5.2.1. Composés phénoliques.....	5
a) Polyphénols.....	5
b) Flavonoïdes.....	6
c) Tanins.....	6
e) Coumarines.....	6
5.2.2. Composés terpénique.....	7
5.2.2.1. Saponosides.....	7
5.2.3. Alcaloïdes.....	8

### *Chapitre N° 2 : Marjolaine*

2. Caractères généraux de l' <i>Origanum majorana</i> .....	9
---	---

2.1. Famille des <i>Lamiaceae</i> .....	9
2.2. Caractère généraux du genre <i>Origanum</i> .....	9
2.3. Répartition géographique du genre <i>Origanum</i> .....	10
2.3.1. Dans le monde.....	10
2.3.2. Distribution géographique du genre <i>Origanum</i> en l'Algérie.....	11
2.4. Marjolaine.....	11
2.4.1. Définition ( <i>Origanum majorana</i> .L).....	11
2.4.2. Nomenclature.....	11
2.4.3. Propriétés médicinales de la marjolaine .....	12
2.4.4. Description de la marjolaine.....	12
2.4.5. Composition chimique d' <i>Origanum majorana</i> L.....	13

### *Chapitre N° 3 : Activité antioxydante*

3. Activité antioxydante .....	14
3.1. Radicaux libres.....	14
3.1.1. Différents types des radicaux libres.....	14
3.1.1.1. Radicaux libres primaire .....	15
3.1.1.2. Radicaux libres secondaire.....	15
3.1.2. Stress oxydatif.....	16
3.2. Substances antioxydantes.....	16
3.2.1. Antioxydants naturels.....	17
3.2.1.1. Antioxydants enzymatiques.....	17
3.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques.....	17
3.2.2. Antioxydants synthétiques.....	18
3.2.3. Mode d'action d'un antioxydant.....	18
3.2.4. Mode d'action antioxydante des polyphénols.....	18

### *Deuxième partie : Travail expérimental*

#### *Chapitre N° 1 : Matériel et méthodes*

1. Matériel végétal.....	21
2. Méthodes.....	21
2.1. Criblage phytochimique .....	21

2.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes.....	21
2.1.2 Mise en évidence des saponosides.....	22
2.1.3. Mise en évidence des tanins.....	22
2.1.4. Mise en évidence des mucilages.....	22
2.1.5. Mise en évidence des coumarines.....	23
2.1.6. Mise en évidence des glycosides.....	23
2.1.7. Mise en évidence des alcaloïdes.....	23
2.2. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique.....	23
2.3. Dosage des polyphénols totaux.....	24
2.4. Chromatographie sur couche mince.....	24
2.5. Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	25
2.5.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode au DPPH .....	26
2.5.2. Test de neutralisation de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	27
2.5.3. Test de peroxydation lipidique (TBA-rs) .....	27

## *Chapitre N° 2 : Résultats et discussion*

1. Criblage phytochimique.....	29
2. Dosage des polyphénols.....	29
3. Chromatographie sur couche mince.....	31
4. Evaluation de l'activité antioxydante .....	32
4.1. Test du DPPH.....	32
4.2. Test de réduction H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	33
4.3. Test de peroxydation lipidique TBArS sur le jaune d'œuf.....	34

**Conclusion et perspectives.....35**

**Résumé**

**Annexe**

**Liste des références**

## **Remerciements**

*Avant tout, Nous remercions notre **Dieu** le tout puissant, créateur **Allah**, Grand et Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleures conditions.*

*Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de biochimie de l'Université de Guelma 08 mai 1945- Faculté des sciences de la nature et de la vie, sous la direction de la doctoresse **Mme.Ayad** que nous tenons à remercier pour la disponibilité, la confiance, les conseils, l'encadrement, la patience de correction et le soutien moral qu'il a su nous apporter tout au long du travail. Nous tenons également à la remercier de toute la patience dont il a su faire preuve au cours de la rédaction de notre mémoire.*

*Nous tenons à remercier **Mme.Mérabet** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses de respect.*

*Nous tenons à remercier **Mme.Drif** d'avoir accepté de faire partie du jury pour examiner notre modeste travail.*

*Nous tenons à remercier également l'ensemble de l'équipe des Laboratoires pédagogique **Ratiba et Ghania**.*

*Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail, nous ne saurions remercier ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail, **Mme Hamdiken**.*

*Nous remercions nos collègues et nos amis pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

## ***Dédicace***

*Je dédie ce travail*

***À mes chers parents,***

*Qui m'ont entouré de leur affection, m'ont fait grandir dans l'envie de comprendre et de découvrir tous qui est scientifique. Pour leur dévouement, leur présence constante au cours de toutes mes années d' « études », en espérant que ce travail sera digne de leurs espoirs et de leur confiance.*

*Avec toute ma tendresse.*

***À 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*

***À mes chers frères,***

*Qui m'ont toujours aimé, et qui ont hâte d'attendre mes félicitations.*

*Avec tout mon amour et ma tendresse*

***À mon cher neveu Mohamed Louai,***

*Je lui souhaite que du bonheur dans sa vie, et de réaliser ses ambitions par sa brillante intelligence.*

***À ma tendre nièce Amani,***

*À qui j'ai beaucoup d'affection et d'amour. Je lui souhaite de grandir tout en réalisant des exploits dignes de son intelligence.*

***Harrez Nour-El-Houda***

## *Liste d'abréviations*

$\frac{1}{2}$  O<sub>2</sub> : Oxygène singulet

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

DO : Densité optique.

DPPH : 2, 2- diphenyl-1- picrylhydrazyl.

EAR : Espèces azotées réactives

EC50 : la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH de 50 %.

EOR : espèces réactives d'oxygène

FeCl<sub>3</sub> : Perchlorure de Fer.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène.

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : acide sulfurique.

HCl : Alcool Chlorhydrique.

HgCl<sub>2</sub> : chlorure mercurique.

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH .

KI : Iodure de potassium.

MDA : Malonaldéhyde.

MeOH : Méthanol.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NH<sub>4</sub>OH : Hydroxyde d'ammonium.

NO° : Monoxyde d'azote.

O<sup>°2-</sup> : Radical superoxide.

OH° : Radical hydroxyl.

ONOO<sup>-</sup> : Peroxynitrite.

P/V : Poids volume.

PG : Gallate propylée

RO° : Radicaux alkoxy

ROO° : Radicaux peroxy

TBA: Acide Thiobarbiturique.

TBA-rs: Acide Thiobarbiturique –substances réactif.

TBHQ : Tétrabutylhydroquinone

TEAC : Trolox equivalent antioxidant capacity

TPT: Teneur en Polyphénols Totaux.

UV : Ultra Violet.

µgEqAG/mg d'extrait: Microgramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait.



## *Liste des tableaux*

<b>Tableau N°</b>	<b>Titres des tableaux</b>	<b>Page N°</b>
<b>1</b>	Liste des espèces du classe B du genre <b>Origanum (Kintzios, 2002)</b>	10
<b>2</b>	Criblage phytochimique d' <i>O.majorana</i>	34

## *Liste des figures*

Figure N°	Titres des figures	Page N°
<b>1</b>	Structure de base des flavonoïdes ( <b>Di Carlo et al., 1999</b> )	6
<b>2</b>	Structure chimique des Coumarines	7
<b>3</b>	Structure chimique de l'isoprène	7
<b>4</b>	Distribution du genre <i>Origanum</i> dans le monde ( <b>Zenasi., 2014</b> )	11
<b>5</b>	Photo de l' <i>Origanum majorana</i> selon ( <b>Dubois et al., 2006</b> )	12
<b>6</b>	Formes actives de l'oxygène dans la cellule ( <b>Binov, 2001</b> )	15
<b>7</b>	Systèmes de défense naturels contre les radicaux libres  ( <b>Binov, 2001</b> )	16
<b>8</b>	Comparaison entre la structure de la quercétine et de de la catéchine ( <b>Harborne et Williams 2000</b> )	19
<b>9</b>	Valeurs de « Trolox equivalent antioxidant capacity » (TEAC) montrant l'importance du groupement catéchol au niveau du cycle B pour l'activité antioxydante ( <b>Rice- Evans, 1996</b> )	20
<b>10</b>	Eléments essentiels pour l'activité anti-oxydante des flavonoïdes  ( <b>Rice-Evans et al., 1996</b> )	20

<b>11</b>	Des feuilles d' <i>Origanum majorana L.</i>	21
<b>12</b>	Filtration d'extrait hydro-méthanolique après 72 h de macération.	24
<b>13</b>	Forme réduite DPPH et la forme radical du DPPH <b>(Molyneux, 2004)</b>	26
<b>14</b>	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	30
<b>15</b>	Chromatographie sur couche mince de L'extrait hydro-méthanolique	31
<b>16</b>	Evaluation de pourcentage d'inhibition d'oxydation par le radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine.	32
<b>17</b>	Pourcentages de l'effet scavenger de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> exercé par l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine et l'acide ascorbique.	33
<b>18</b>	Pourcentage d'inhibition de l'MDA en fonction de différentes concentrations de l'extrait préparé.	34

*Introduction*  
*générale*

## Introduction

L'homme utilise depuis des millénaires des plantes médicinales pour se faire soigner. Si les médicaments (synthétiques) ont remplacé largement les plantes, il en demeure que plus de la moitié de la population mondiale (en particulier la population africaine) continue à utiliser ces plantes. L'activité grandissante des boutiques parapharmaceutiques en est une preuve.

Aujourd'hui, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes aromatiques et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis en faveur de l'industrie agroalimentaire (additifs, colorants, arômes, agents de conservation) et pharmaceutique. Parmi les composés, on peut citer les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

L'Algérie est considérée comme un pays riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (**Quézel et Santa, 1962**).

Les principaux objectifs de ce travail sont la détermination des composés chimiques de la marjolaine, et l'évaluation du pouvoir anti radicalaire d'extrait hydro alcoolique de cette plante.

Ce manuscrit est composé de trois parties. Il est commencé par la synthèse bibliographique qui est structuré comme suit :

- Le premier chapitre traite des généralités de la phytothérapie et les plantes médicinales.
- Le deuxième chapitre est consacré par la plante étudiée (***Origanum majorana***).
- Le troisième chapitre est porté sur l'activité antioxydante.

La partie expérimentale est axée sur :

- Un screening phytochimique de la plante *Origanum majorana*,
- Extraction de l'extrait hydro alcoolique,

- Dosage des polyphénols totaux,
- Chromatographie sur couche mince

Et enfin une étude biologique in vitro visant à évaluer le pouvoir antioxydant d'extrait hydro alcoolique par le test du piégeage du radical libre DPPH, test TBA et le test de neutralisation H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

La troisième partie a présenté les résultats obtenus amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion et les perspectives envisagées.

# *Première partie*

## *Synthèse bibliographique*

# *Chapitre N° 1*

## *Phytothérapie*



## 1- Généralités sur la phytothérapie

On qualifie une plante médicinale toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle. Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les racines, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs. La branche de la médecine qui utilise des plantes médicinales est appelée phytothérapie (**Delaveau, 2003**).

Etymologiquement, le terme « phytothérapie » se décompose en deux termes distincts qui sont « phuton » et « therapeia » et qui signifient respectivement « plante » et « traitement » de par leur racine grecque.

La phytothérapie est donc une thérapeutique destinée à traiter certains troubles fonctionnels et certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes et de préparations à base de plantes. C'est une thérapeutique inspirée de la médecine traditionnelle basée sur un savoir empirique enrichi au fil des générations. C'est ce qu'on appelle la « phytothérapie traditionnelle » qui est toujours grandement utilisée dans certains pays qui perpétuent les usages de leurs ancêtres (**Gruffat X, 2017**).

Ce savoir empirique s'est ensuite transformé en analyse botanique pour déterminer par quel mécanisme d'action les plantes pouvaient agir, et quelles étaient les molécules ou les constituants responsables de cet effet thérapeutique.

Aujourd'hui la phytothérapie se décline sous plusieurs formes en fonction de la méthode d'extraction de la drogue végétale :

- Les tisanes
- Les formes sèches : gélules et comprimés à avaler
- Les formes liquides : sirops, macérats, teintures et extraits fluides
- Les pommades, crèmes et onguents

## 2. Plantes médicinales

D'après la X<sup>ème</sup> édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses". Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques (**Debuigne, 1974**).

On peut distinguer deux types de plantes médicinales : En premier lieu se trouve l'allopathie dans laquelle les plantes ont une action importante et immédiate. Beaucoup des plantes utilisées dans ce mode de traitement peuvent s'avérer toxiques. En

effet deux tiers des médicaments sur le marché sont d'origine naturelle, principalement végétale (**Moreau, 2003**). Puis on différencie les plantes dépourvues d'effet iatrogène mais ayant une activité faible. Elles sont utilisées en l'état ou dans des fractions réalisant le totum de la plante, soit la totalité des constituants (**Moreau, 2003**).

### **3. Totum**

Le terme de "totum" désigne l'ensemble des constituants de la plante supposés actifs, agissant en synergie et par complémentarité pour moduler, modérer ou renforcer l'activité de la drogue (**Institut Européen des Substances Végétales, 15/10/08**). La plante dans son totum présente des potentialités d'action très variées, pour un résultat plus sûr, plus complet chez le malade.

### **4. Utilisation des plantes médicinales**

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres (**Bézanger et al., 1986**). Maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales. Quelle que soit leur présentation, elles jouissent d'un regain d'intérêt largement suscité et entretenu par la publicité ainsi que par d'innombrables ouvrages de vulgarisation. De plus en plus de plantes sont utilisées en mélange. Pour ces préparations, des règles de bonnes pratiques officinales ont été instaurées. De nombreux paramètres sont à respecter comme le nombre de plantes, les associations possibles, la saveur, ou encore le goût qui devra être adapté au client. L'âge du patient et son état devront également être pris en compte. La menthe par exemple, sera évitée chez un patient ulcéreux.

### **5. Métabolites des plantes**

Les végétaux produisent des substances chimiques de structures variées comme les métabolites primaires et secondaires (**Edeas, 2007**).

#### **5.1. Métabolites primaires**

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme (**Diallo, 2000**).

### 5.1.1. Glucides

Les glucides sont appelés hydrates de carbones ou polysaccharides. Ce sont également des composés organiques carbonylés (aldéhydiques, cétoniques), ces molécules sont caractérisées par leur formule de la forme  $(CH_2O)_n$  avec  $n > 3$ . Ce sont aussi des composés qui apparaissent les premiers lors de la photosynthèse. On distingue deux catégories (**Fournier et Dunod, 1934– 1940**) :

- les molécules élémentaires non hydrolysables : les oses
- les composés hydrolysables : les osides.

### 5.1.2. Amidon

L'amidon est la principale forme de réserve glucidique des végétaux. Il est présent dans toutes les parties de la plante et existe sous la forme d'une structure organisée correspondant à un homopolymère presque pur de D-glucose (**Edouard *et al.*, 2002**).

### 5.1.3. Lipides

Les lipides et acides gras représentent quant à eux généralement environ sept pour cent du poids sec des feuilles des plantes, et ont un rôle important comme constituant des membranes des chloroplastes et des mitochondries. Les lipides sont dérivés en deux catégories : les lipides neutres (triglycérides) et les lipides polaires (phospholipides et glycolipides) (**Kintzios, 2002**).

## 5.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (composés phénoliques, terpènes, les alcaloïdes) qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents la pharmacologie ou l'agroalimentaires (**Macheix *et al.*, 2005**).

### 5.2.1. Composés phénoliques

Les principaux composés phénoliques ne sont pas présents à l'état libre mais sous forme d'ester ou plus généralement sous forme d'hétérosides (**Paul et Ferdinand, 2010**)

#### a) Polyphénols

Les polyphénols également dénommés, composés phénoliques sont des molécules spécifique du règne végétale (**Guignard, 1979**), avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante.

## b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin, flavus : jaune) sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux (**Guignard, 1996**). Cependant, il compte aussi des composés de couleurs variées ou même incolores (**Richter, 1993**), ils sont d'une classe de faible poids moléculaire (**Lin *et al.*, 2002**). Environ de 4000 flavonoïdes ont été identifiés, ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (**Bennick, 2002**). Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (**Gabor *et al.*, 1988**).

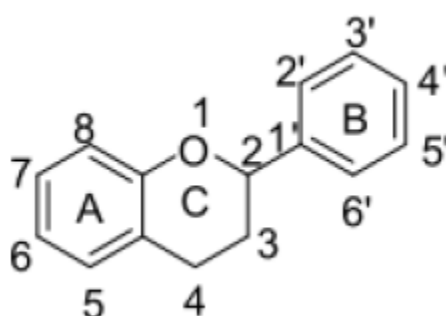


Figure N° 01. Structure de base des flavonoïdes (**Di Carlo *et al.*, 1999**)

## c) Tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques (**Khambalee et Ree, 2001**), localisés dans les vacuoles (**Aguilera-Carbo *et al.*, 2008**). Ils sont caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (**Paris M., 1981**).

Ils permettent d'optimiser la valeur nutritive des aliments, ainsi que les qualités organoleptiques des boissons et sont étroitement liées à la fabrication du cuivre (**Bernard et Metche, 1980**). Les tanins sont présents dans une variété de plantes utilisées dans l'alimentation notamment les céréales et les légumineuses (haricot secs, petit pois) et les fruits comme orange, pêche, poire, fraise et les raisins (**Peronny, 2005**).

## e) Coumarines

Les coumarines qui sont aussi des dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus des benzopyrones (**O'Kennedy *et* Thornes, 1997**) et toutes sont substituées en C7 par un hydroxyle. Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide p-coumarique. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état

libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999).

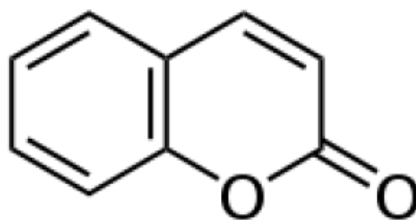


Figure N°02. Structure chimique des Coumarines

### 5.2.2. Composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandue dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone à la formule générale (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) reconnue par Wallach dès 1887 (Lamarti, 1994).

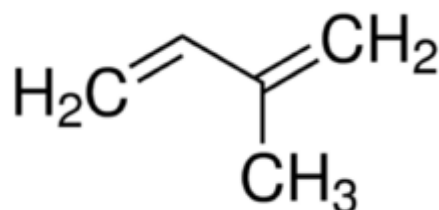


Figure N°03. Structure chimique de l'isoprène

#### 5.2.2.1. Saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes dont les solutions aqueuses ont des propriétés tensioactives et un pouvoir moussant. Présents dans tous les organes, ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé qui libèrent par hydrolyse un ou plusieurs oses et une génine appelée sapogénine. Difficilement cristallisables, ils sont solubles dans l'eau et dans l'alcool dilué. (Roux et Catier, 2007).

#### 5.2.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs (appelés réactifs des alcaloïdes) et doués à faible dose, de propriétés physiologiques marquées. Sur

le plan chimique ils constituent un groupe très hétérogène, possédant cependant quelques propriétés physico-chimiques communes. Ils portent tous la terminaison « ine » (**Zenk et Juenger, 2007**). Ils constituent un des plus grands groupes de près de 10000 à 12000 structures (**Stöckigt *et al.*, 2002**). On distingue généralement :

- **Alcaloïdes vrais**, dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle.
- **Proto-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés, dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique.
- **Pseudo-alcaloïdes**, présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Beddou, 2015**).

*Chapitre N<sup>o</sup> 2*

*Marjolaine*

## 2. Caractères généraux de *l'Origanum majorana*

### 2.1. Famille des *Lamiaceae*

La classification des genres au sein de la famille des *Lamiaceae* a été controversée. La délimitation des genres et des sous-familles est en effet difficile pour les personnes n'ayant pas l'expérience de cette famille. Cependant, la famille des *Lamiaceae* est une famille d'une grande importance. C'est même la sixième plus grande famille des plantes à fleurs, et sûrement la plus importante du point de vue économique. On s'accorde à lui reconnaître sept sous-familles : *Ajugoideae*, *Lamioideae*, *Nepetoideae*, *Prostantheroideae*, *Scutellarioideae*, *Symphorematoideae* et *Viticoideae* (Drew et Sytsma, 2012 ; Kubitzki, 2004).

La sous-famille des *Nepetoideae*, qui est la plus large de ces sous-familles, contient pratiquement un tiers des genres et la moitié des espèces des *Lamiaceae*, et est elle-même divisée en trois tribus : *Escholtzieae*, *Mentheae* et *Ocimeae*. Au sein de la tribu *Mentheae*, qui regroupe plus de 65 genres et 2300 espèces, on retrouve le genre *Origanum*, qui est ici notre sujet (Drew et Sytsma, 2012 ; Kubitzki, 2004).

La famille des *Lamiaceae* représente donc un ensemble d'environ 7000 espèces, regroupées en 236 genres, et retrouvées principalement dans la région méditerranéenne, mais avec une aire de dispersion très étendue. C'est une famille très homogène, reconnaissable notamment à la présence de tiges quadrangulaires et à la production d'essences par la plante. Ce sont par conséquent des plantes très entomophiles. (Kintzios, 2002)

### 2.2. Caractère généraux du genre *Origanum*

Preuve de la complexité de la classification du genre *Origanum*, deux concepts étaient utilisés par les taxonomistes jusque dans les années 1980. Le premier concept reposait sur l'existence de trois genres bien distincts et le second ne comprenait qu'un seul et unique genre. Ainsi, en 1834, Bentham différenciait trois genres : *Amaracus*, *Majorana* et *Origanum*. Cependant, en 1848, il retourne au concept de Linné et décrit 4 sections au genre *Origanum* : *Amaracus*, *Majorana*, *Origanum* et *Anatolicon*. En 1895, Briquet accepte 3 genres séparés et décrit des sections supplémentaires dans le genre *Majorana* (*Schizocalyx*, *Holocalyx* et *Chilocalyx*).

On distingue également trois groupes au sein du genre *Origanum* : (Kintzios, 2002)



- **Groupe A**, possédant un calice plutôt large de 4 à 12 millimètres, et une ou deux lèvres. Ses bractées sont plutôt larges, de 4 à 25 millimètres de long, membraneuses, habituellement violettes, parfois vertes tirant sur le jaune, plus ou moins glabres.
- **Groupe B**, possédant quant à lui un calice plutôt petit de 1,3 à 3,5 millimètres, et une ou deux lèvres. Ses bractées sont plutôt petites, de 1 à 5 millimètres, d'une texture et d'une couleur semblables aux feuilles, plus ou moins "poilues". Ceci qui nous intéresse dans notre sujet (**voir tableau 01**).
- **Groupe C**, possédant un calice avec cinq dents subégales.

**Tableau N°1.** Liste des espèces du classe B du genre *Origanum* (**Kintzios, 2002**)

Groupe	Section	Espèces/ Sous espèces/Variétés
<b>B</b>	<i>Chilocalyx</i> <i>Ietswaart</i>	<i>O. bilgeri</i> Davis
		<i>O. micranthum</i> Vogel
		<i>O. microphyllum</i> Vogel
		<i>O. minutiflorum</i> Schwarz et Davis
	<i>Majorana</i> <i>Bentham</i>	<i>O. majorana</i> L.
		<i>O. onites</i> L.
		<i>O. syriacum</i> L. var. <i>syriacum</i>
		<i>O. syriacum</i> L. var. <i>bevanii</i> <i>Ietswaart</i>
		<i>O. syriacum</i> L. var. <i>sinaicum</i> <i>Ietswaart</i>

## 2.3. Répartition géographique du genre *Origanum*

### 2.3.1. Dans le monde

Le genre *Origanum* sont largement répandues dans les régions euro-sibérienne et irano-sibérienne (**Bekhechi et al., 2008**). Elles sont principalement distribués sur le pourtour du bassin méditerranéen, dont près de 80 % exclusivement présents dans l'Est méditerranéen (**Simonnet., 2011**) (**Voir figure 4**). La plupart sont originaires ou limitées à l'est partie de la zone méditerranéenne, Europe, Asie et Nord d'Afrique (**Hussain et al., 2010**). Il est principalement réparti en Turquie, en Grèce et au Moyen Orient (**El Brahim., 2014**). Les espèces appartenant à ce genre font partie des plus importantes nous pouvons citer *O.vulgare* (*Origan commun, ou Marjolaine sauvage*), *O.Compactum* (*Origan compact*), *O. majorana* (*marjolaine ou Origan des jardins*), *O. dictamnus*, *O. onites*, *O. heracleoticum* et *O. syriacum* (**Allard., 2015**)

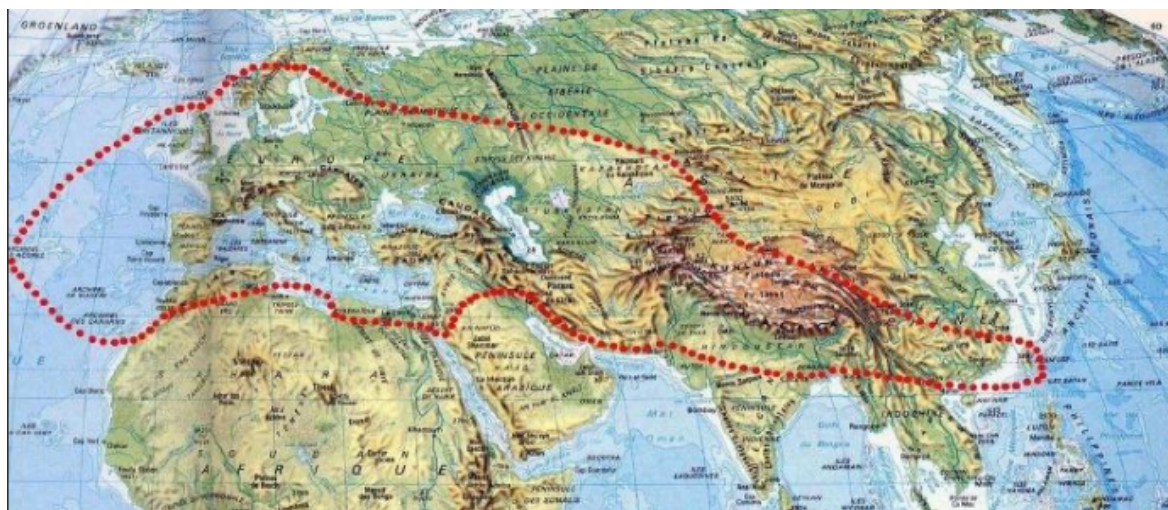


Figure N°04. Distribution du genre *Origanum* dans le monde (Zenasi., 2014)

### 2.3.2. Distribution géographique du genre *Origanum* en l'Algérie

Le genre *Origanum* est une plante répandue en Algérie (Chikhoune., 2007), elle est représentée par trois espèces spontanée phylogénétiquement proche *Origanum majorana* et *Origanum vulgare ssp glandulosum* Desf endémique algérotunisienne et *Origanum floribundum* endémique algérienne (Daoudi-Merbah., 2013).

## 2.4. Marjolaine

### 2.4.1. Généralités de la marjolaine

La Marjolaine ou Origan des jardins (*Origanum majorana*.L) est une plante annuelle de la famille des *Lamiaceae*, cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles aromatiques. C'est une espèce très proche de l'Origan commun (*Origanum vulgare*). Elle est parfois appelée Marjolaine des jardins. Autres noms communs : *marjolaine officinale*, *marjolaine à coquilles* (Dubois *et al.*, 2006).

Elle est relativement proche du thym, tant par son odeur que par sa composition chimique.

### 2.4.2. Nomenclature

*Origanum majorana* L (*O. majoranoides*, *Majorana hortensis*) Le nom vernaculaire: Mardkouch, *Marjolaine vraie*, Marjoram (*Majorana hortensis* Moench) (voir figure 05), Marjolaine douce est une plante pousse en Europe du Sud, l'Afrique du Nord et la Turquie (Fathy *et al.*, 2009). Elle est communément connue sous le nom d'origan, du fait de son étymologie grecque organon signifiant "montagne et joie" ou "aime la montagne".

Elle peut également se faire appeler marjolaine à coquilles, de Crète, dictame, thym de berger, thé rouge ( Vera et Chane, 1999)



Figure N° 05. Photo de *l'Origanum majorana* selon (Dubois *et al.*, 2006).

#### 2.4.3. Propriétés médicinales de la marjolaine ( Vera et Chane, 1999)

- Calme les douleurs musculaires, articulaires, crampes, courbatures, et les règles douloureuses.
- Un tranquillisant du système nerveux.
- Nervosité, dépression, anxiété, insomnies et aux migraines.
- Troubles digestifs, spasmes intestinaux, flatulences, ballonnements, diarrhées, nausées et stimule l'appétit
- Régule la tension artérielle.
- Nettoie les voies respiratoires.( En inhalation)
- Un antiseptique efficace contre les aphtes, maux dentaires, la gingivite et autres infections touchant la bouche.
- Apaise les foulures et les douleurs articulaires.
- Soigne les plaies superficielles.
- Problèmes respiratoires.
- Calme les accès de toux
- En cas d'asthénie.

#### 2.4.4. Description de la marjolaine

C'est une espèce, très proche de l'origan, qui possède des feuilles de 1 à 2 cm de long, opposées, d'un vert grisâtre, de forme ovale entière. Ses fleurs sont

petites, blanches ou mauves, disposées en groupes serrés à l'aisselle des feuilles avec deux bractées en forme de cuillère ( **Furia et Bellanca, 1971**). Cette herbe s'emploie sous forme de feuilles fraîches ou séchées, seule ou en mélange avec d'autres herbes, pour aromatiser de nombreuses préparations culinaires. La marjolaine est connue aussi pour ses propriétés anaphrodisiaques. C'est une plante aromatique très utilisée en cuisine, notamment dans les mets culinaires méditerranéens, son huile essentielle est connue pour sa propriété antiseptique ( **Chung et al., 2001**).

#### **2.4.5. Compositon chimique d'*Origanum majorana* L**

*L'Origanum majorana* contient des coumarines , flavonoïdes , sucre , tannins , stéroïdes et L'huile essentielle ( **Sanju et al., 2016**).

# *Chapitre N° 3*

*Activité*

*antioxydante*

### 3. Activité antioxydante

De nombreuses recherches sont effectuées à travers le monde pour trouver des antioxydants nouveaux et sûrs afin de prévenir les réactions oxydantes de détérioration des aliments gras, et de minimiser les dommages causés par ces réactions oxydantes sur les membranes des cellules vivantes. Un très grand nombre d'études rapporte les effets antioxydants des différentes espèces d'*Origanum*. Cependant, ces effets antioxydants ne trouvent encore que peu d'applications industrielles, notamment à cause de leurs arôme et saveur, qui peuvent nettement influencer les caractéristiques sensorielles de l'aliment transformé. Une étape supplémentaire de désodorisation pourrait alors être nécessaire. (Kintzios, 2002)

Les extraits de marjolaine contiennent un taux considérable de phénols et d'autres composés aromatiques comme l'alpha-terpinène, le terpinolène et le thymol ou des acides hydroxycinnamiques et des flavonoïdes. Les acides rosmarinique et caffeique ont été aussi détectés (Soliman *et al.*, 2007)

#### 3.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules naturelles de notre propre métabolisme, ils sont très réactifs et instables. Ils attaquent des composants cellulaires sains pour voler un électron pour devenir stables. Ce balayage d'électrons par les radicaux libres, collectivement appelés stress oxydatif, qui cause des dégâts à la membrane cellulaire, aux protéines, aux parois des vaisseaux sanguins, aux lipides ou même à l'ADN. Les radicaux libres sont des espèces réactives d'oxygène (EOR) et les dérivés d'espèces azotées réactives (EAR). La formation des radicaux libres se produit soit par les processus naturels du corps tels que le processus métabolique dans les mitochondries et dans le cytochrome oxydase et la peroxydation lipidique, parfois par la stimulation microbienne sur les neutrophiles ou des facteurs environnementaux comme l'exposition aux rayonnements (Govindarajan *et al.*, 2005; Lakshmi *et al.*, 2014).

##### 3.1.1. Différents types de radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer deux grandes classes de radicaux libres: les radicaux libres primaires, directement formés à partir de l'oxygène et les radicaux libres secondaires ou organiques générés par l'action des radicaux libres primaires (Binov, 2001), comme est représenté dans la figure suivante :

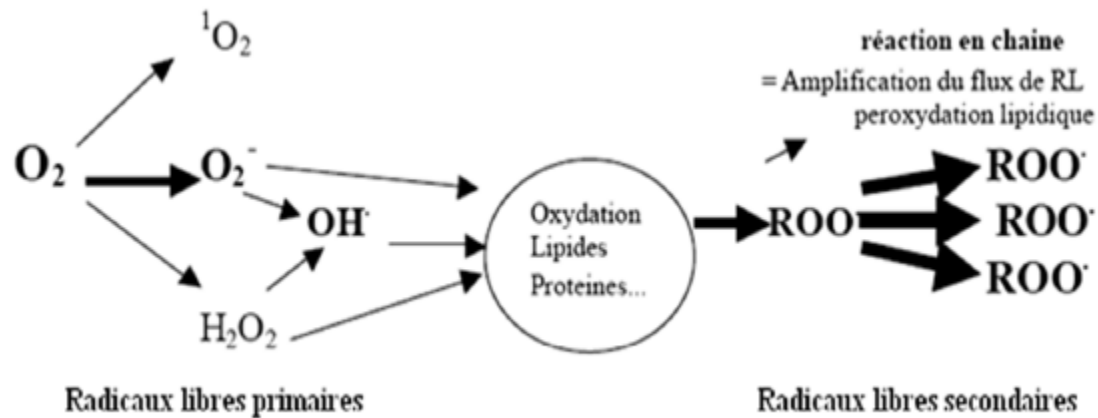


Figure N° 06. Formes actives de l'oxygène dans la cellule (Binov, 2001)

### 3.1.1.1. Radicaux libres primaire

Les radicaux libres primaires sont les plus dangereux car ils sont directement formés à partir de l' $O_2$  (Reichl *et al.*, 2004). L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ERO). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hydroxyl ( $OH^{\bullet}$ ), monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ) mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet ( $^1/2 O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) (Favier, 2003).

### 3.1.1.2. Radicaux libres secondaire

Ils ne sont pas formés spontanément, ils sont formés par l'action d'un radical libre primaire sur un composant cellulaire (acides nucléiques, lipides membranaires, protéines). Ce sont les radicaux alkoxy ( $RO^{\bullet}$ ) et peroxy ( $ROO^{\bullet}$ ) qui se forment lors du métabolisme d'un certain nombre de substances étrangères (xénobiotiques). Ainsi, des composés tels que le 1,2-dibromométhane (additif présent dans l'essence), ou le paracétamol peuvent être métabolisés en radicaux libres, et être ainsi la cause de lésions dans l'organisme (Reichl *et al.*, 2004). Au niveau de la cellule, il est très important de contrôler la production de radicaux libres primaires essentiellement  $O_2^{\bullet-}$  et  $H_2O_2$ . En effet, cela entraîne une production moins importante de radicaux libres secondaires et donc par conséquent une protection des constituants cellulaires et un maintien de l'activité biologique de la cellule (Binov, 2001).

### 3.1.2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres et des éléments oxydants et la capacité de leur élimination par les antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (**Barouki, 2006; Reuter *et al.*, 2010**). Le stress oxydatif peut résulter d'une exposition accrue aux oxydants ou d'une protection réduite contre les oxydants (**Davies, 2000**). Dans les conditions normales, la balance oxydative définit donc l'équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les espèces anti-oxydantes. Mais en conditions d'oxydation, les pro-oxydants emportent sur les antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (**Bayala, 2014**).

### 3.2. Substances antioxydantes

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules non enzymatiques. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires dans le but d'atténuer ou d'empêcher les effets nocifs des ERO et des radicaux libres (**Reichl *et al.*, 2004 ; Cano *et al.*, 2007**).

Notre organisme réagit donc de façon constante à la production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Favier, 2003**) (voir figure 07).

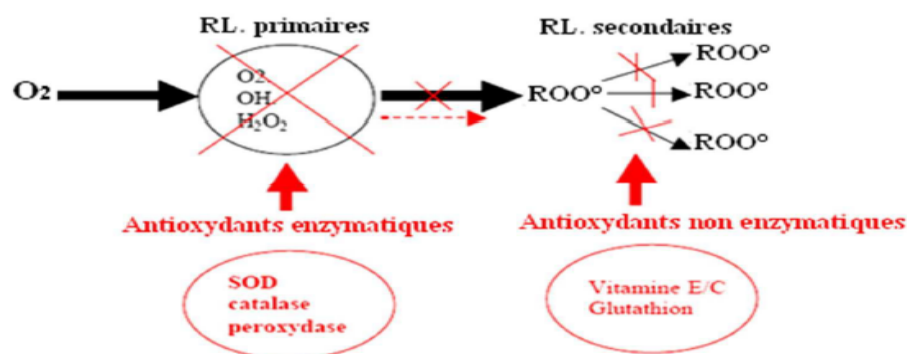


Figure N° 07 : Systèmes de défense naturels contre les radicaux libres (**Binov, 2001**)



### 3.2.1. Antioxydants naturels

#### 3.2.1.1. Antioxydants enzymatiques

La cellule est pourvue de systèmes de défense très efficaces. Plusieurs enzymes peuvent catalyser des réactions de détoxification des différents pro-oxydants. Les antioxydants enzymatiques sont capables d'éliminer les radicaux libres primaires de façon permanente et efficace, en transformant l'anion  $\text{OH}^\circ$  et le  $\text{H}_2\text{O}_2$  en produits non toxiques : l'eau et l'oxygène moléculaire (**Lehucher-Michel *et al.*, 2001**). Les antioxydants enzymatiques sont principalement trois enzymes : la superoxyde-dismutase, la catalase et les peroxydases. En état de stress oxydant, la production des radicaux libres primaires augmente très fortement, de ce fait, les systèmes enzymatiques primaires qui ont une vitesse maximum d'élimination des radicaux libres primaires, sont débordés. Ces radicaux libres primaires non éliminés vont alors oxyder les constituants cellulaires. Ce qui engendre la formation de radicaux libres secondaires ( $\text{ROO}^\circ$ ) qui sont capables de réaction d'oxydation en chaîne conduisant à la destruction des cellules. Ces phénomènes d'oxydation en chaîne, peuvent être ralentis par des antioxydants secondaires non enzymatiques qui sont apportés par l'alimentation (**Binov, 2001**).

#### 3.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Divers piègeurs de radicaux libres non enzymatiques peuvent prendre en charge la détoxification d'un grand nombre de radicaux libres. Ces composés sont facilement oxydables, relativement stables et conduisent à des dismutations permettant l'arrêt des réactions radicalaires en chaîne. Ce système de protection peut être à la fois membranaire (vitamine E, A) ou cytosolique et extracellulaire (glutathion, vitamine C). Certains éléments minéraux exercent indirectement un rôle antioxydant en agissant comme des cofacteurs. Ainsi le cuivre, le zinc et le fer sont des cofacteurs pour la superoxyde dismutase, le fer est également un cofacteur pour la catalase et le sélénium est le cofacteur du glutathion-peroxydase (**Delattre *et al.*, 2003**).

Aussi, parmi les antioxydants végétaux, les polyphénols apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (**Gee et Johnson, 2001**). Les polyphénols, suscitent un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales, est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. En effet, un très grand nombre de données

expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardio-vasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires (**Rock, 2003 ; Bubonja-Sonje *et al.*, 2011**).

### 3.2.2. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (**Yu *et al.*, 2000**). En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomales du foie et des organes extra-hépatiques (**Barlow, 1990**).

### 3.2.3. Mode d'action d'un antioxydant

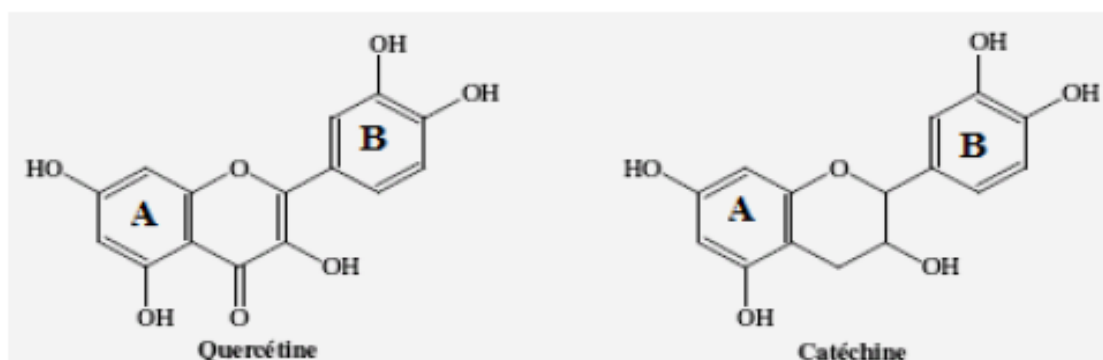
D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés de phénols (**Zieliński *et al.*, 2012**). En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de position appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (**Cillard, 2011**). Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras .tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**Cillard *et al.*, 2006**).

### 3.2.4. Activité antioxydante de polyphénols

La grande capacité des composés phénoliques à contrecarrer les radicaux libres et à chélater les ions des métaux de transition est directement reliée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres et aux positions des groupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques (**Rice-Evans *et al.*, 1996**).

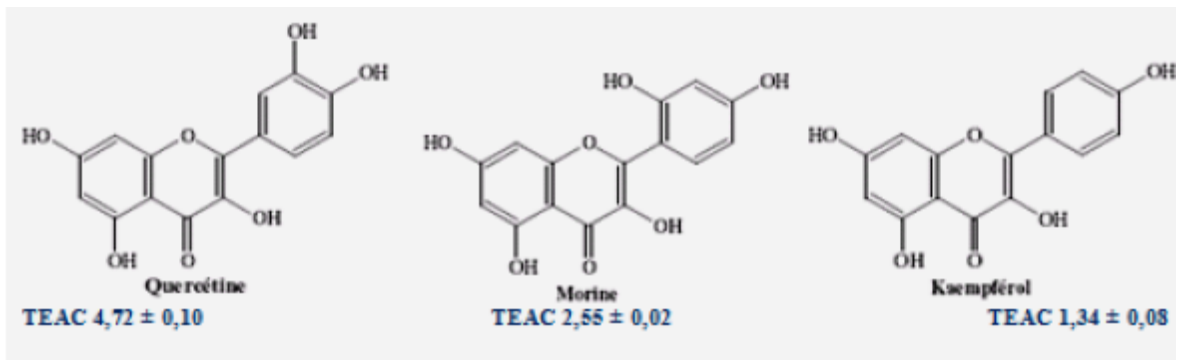
Les polyphénols agissent contre la peroxydation lipidique de deux façons : par la protection des lipides contre les initiateurs de l'oxydation ou par arrêt de la phase de propagation. Dans le premier cas, les antioxydants dits préventifs entravent la formation des ERO ou éliminent les espèces réactives responsables de l'initiation de l'oxydation comme  $O_2^{\cdot-}$ ,  $\frac{1}{2} O_2$  et  $OH^\circ$ . Dans le second cas, les antioxydants dits briseurs de chaîne perdent généralement un atome d'hydrogène en faveur des radicaux propagateurs de l'oxydation ( $LOO^\circ$ ) pour stopper la propagation de la peroxydation (**Laguerre *et al.*, 2007 ; Leopoldini *et al.*, 2011**). En ce qui concerne le pouvoir antioxydant des flavonoïdes vis-à-vis des radicaux libres, il est dû à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (**Sandhar *et al.*, 2011**). Leur capacité de donation d'hydrogène augmente avec l'augmentation de l'hydroxylation de leurs cycles phénoliques (**Le *et al.*, 2007**). Les flavonoïdes exercent aussi des effets antioxydants par la chélation des ions métalliques (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires (**Van Acker *et al.*, 1996 ; Verdan *et al.*, 2011**). Plusieurs travaux décrivent les relations structures-activités des polyphénols (**Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Van Acker *et al.*, 1996 ; Harborne et Williams, 2000 ; Amič *et al.*, 2003 ; Woodman *et al.*, 2005**). Ces travaux permettent de connaître les activités anti-oxydantes de ces molécules en fonction de leurs caractéristiques structurales. En fait, leur activité anti-radicalaire nécessiterait (**voir figures 8 et 9**):

- ✓ La présence d'une double liaison entre les carbones C2 et C3 et d'un groupement carbonyle en C4 pour une activité anti-oxydante plus marquée, ainsi l'activité de la quercétine (flavonol) est deux fois plus élevée que celle de la catéchine (flavan-3 ol).



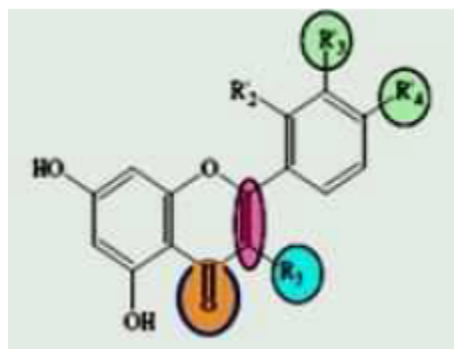
**Figure N° 08.** Comparaison entre la structure de la quercétine et de la catéchine (**Harborne et Williams 2000**)

- La présence d'une structure ortho-diphénolique du cycle B (les groupements hydroxyles en position C3'- C4').



**Figure N° 09.** Valeurs de « Trolox equivalent antioxidant capacity » (TEAC) montrant l'importance du groupement catéchol au niveau du cycle B pour l'activité antioxydante  
(Rice- Evans, 1996)

- Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif (voir figure 10). Rice-Evans *et al.* (1996) ont démontré l'importance de ce dernier. En effet, La glycosylation du groupe C3-OH de la quercétine (cas de la rutine) ou sa suppression (cas de la lutéoline) diminue l'activité anti-oxydante.



**Figure N° 10.** Eléments essentiels pour l'activité anti-oxydante des flavonoïdes  
(Rice-Evans *et al.*, 1996)

# *Deuxième Partie*

*Travaux expérimentaux*

# *Chapitre N° 1*

*Matériel*  
*et méthodes*

## 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, est les feuilles *d'Origanum majorana*. Cette dernière a été achetée du marché de Oued Zenati wilaya de Guelma. Après l'achat, le matériel végétal (**voir figure 11**) a été débarrassé des débris. Il est ensuite procédé du broyage et à la conservation de l'échantillon dans des flacons.



Figure N° 11. Des feuilles d'*Origanum majorana L.*

## 2. Méthodes d'analyses

### 2.1. Criblage phytochimique

Des tests en tube sont réalisés sur la poudre végétale afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans la plante analysée.

Le criblage phytochimique consiste à réaliser 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 métabolismes secondaires de la plante étudiée (**Trease et Evans, 1987**).

On peut citer les principales classes des composés chimiques, telle que : les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les alcaloïdes, les saponosides et les coumarines...etc.

#### 2.1.1. Mise en évidence des flavonoïdes

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

##### Coloration par le perchlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>)

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonctions phénoliques dans leur génies, donnent des colorations variées avec des diluées de FeCl<sub>3</sub>. 2 à 3 gouttes d'une solution de

FeCl<sub>3</sub> diluée à 2% sont ajoutées à 2 ml de solution extractive. L'apparition d'une coloration verdâtre, indique que le test est positif (Mbodj, 2003).

### 2.1.2 Mise en évidence des saponosides

À 100 ml d'eau distillée bouillante sont ajoutés 1 g de la poudre végétale, le mélange est maintenu une quart d'heure et après filtration le filtrat est ajusté à 100ml. 1ml du décocté à 10% est ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée, le mélange est 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)

### 2.1.3. Mise en évidence des tanins

5 g de poudre sont suspendus dans 100 ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, le mélange est filtré puis le filtrat à 100 ml avec de L'eau distillée. Il est introduit 5 ml d'infusé à 5 % dans un tube à essais, puis il est ajouté 1 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (Edeoga1 *et al.*, 2005).

#### Tanins cathéchiques

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

#### Tanins galliques : réaction de stiasny

À 30 ml de solution à 5% sont additionnés 15 ml de réactif de stiasny, après chauffage au bain-marie à 90°C pendant 15 mn et filtration le filtrat est saturé par 5 g d'acétate de sodium. Ensuite, il est ajouté 1 ml d'une solution de FeCl<sub>3</sub> (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).

### 2.1.4. Mise en évidence des mucilages

À 1 ml du décocté à 10 % sont 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).



### 2.1.5. 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<sub>4</sub>OH (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**).

### 2.1.6. Mise en évidence des glycosides

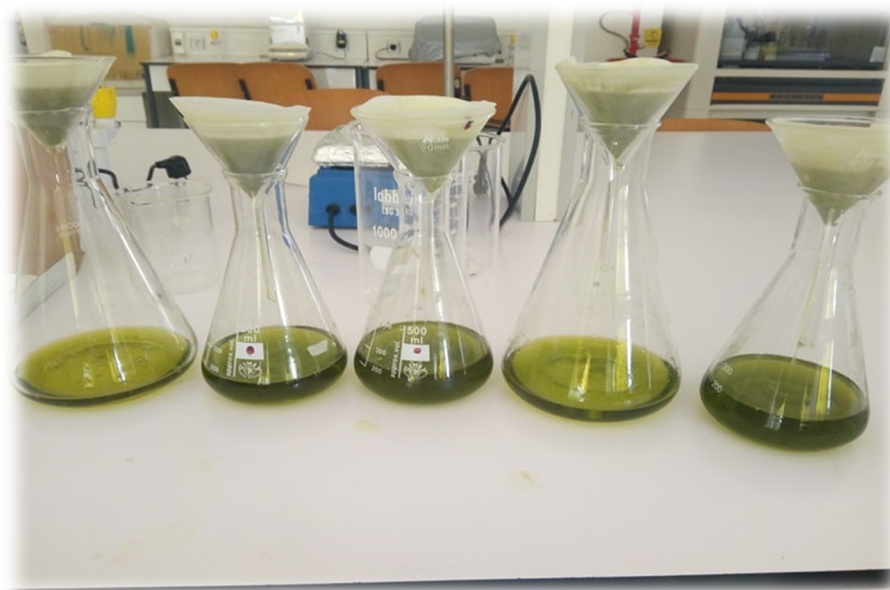
5 g de plante sont additionnés à 50 ml d'une solution de l'acide tartrique 2% dans l'éthanol, le mélange est chauffé durant 2 h, après filtration et lavage par l'éthanol, le mélange est introduit dans l'eau chaude après une deuxième filtration, il est ajouté 2 gouttes de liqueur de Fehling à 2 ml du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

### 2.1.7. Mise en évidence des alcaloïdes

À 10 g de poudre végétale séchée sont ajoutés 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 %. Après agitation pendant 30 minutes, le macérat est 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 sont additionnés 5 gouttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc jaunâtre. (**Edeoga1 et al., 2005**).

## 2.2. 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 la drogue végétale sont mélangés dans du méthanol à 85%. L'extraction est réalisée par macération à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 72 heures. Après une double filtration sur un papier filtre (**voir figure 12**), le filtrat sont évaporés sous vide à l'aide d'un rota vapeur (BUCHI – zwitterbland) à 45°C puis tous les extraits sont conservés à froid jusqu'à leur utilisation (**Fadili, 2015**).



**Figure N° 12.** Filtration d'extrait hydro-méthanolique après 72 h de macération.

### 2.3. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques de l'extrait hydro-méthanolique préparé a été estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Li *et al.*, 2007**). Brièvement, 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) sont ajoutés à 200  $\mu$ l d'extrait ou du standard avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800  $\mu$ l d'une solution de carbonate de sodium (7,5%) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde  $\lambda = 765 \text{ nm}$ . La teneur en polyphénols totaux a été estimée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200  $\mu$ g/ml) et exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu$ g EqAG/mg d'extrait).

### 2.4. Chromatographie sur couche mince

Cette méthode repose sur la séparation de différents constituants d'un extrait selon leur affinité de migration dans la phase mobile (**Ekoumou, 2003 ; Debete, 2005**) qui est en générale un mélange de solvant ; adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire (**Ferrari, 2002**) qui est constituée d'une couche mince et uniforme, de 0,25cm d'épaisseur, de silice séchée, finement pulvérisée et appliquée sur un support approprié (feuille d'aluminium ou de verre) (**Anton *et al.*, 1998**). Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénolique et flavonoïque de l'extrait (**Ferrari, 2002**).

### ➤ Préparation du solvant de migration

Le solvant de migration est préparé selon les proportions suivantes (**Gwenola *et al* .,2011**) :

- Butanol – Acide acétique – Eau distillé (40V : 10V : 50V).

Le dépôt se fait linéairement de façon ponctuelle avec un capillaire à usage unique. Il doit être posé perpendiculairement et prudemment sur la plaque pour ne pas gratter le gel. Un séchage est obligatoire après chaque dépôt (**Sine, 2003**).

### ➤ Migration

La plaque ainsi préparée est introduite dans la cuve à chromatographie au fond de laquelle se trouve l'éluant appropriée (**Antonot et Marcha, 1998**). La phase mobile parcourt alors la phase stationnaire provoquant ainsi une succession de partage des constituants entre les deux phases, ce qui permet une séparation des constituants entre les deux phases. La migration est arrêtée lorsque le front du solvant sont 10 à 15 cm. La plaque est ensuite séchée (**Marouf, 2002**). Après développement et évaporation du solvant de migration les tâches sont visualisées sous UV à  $\lambda$  égale 254 nm ou 365 (**Merghem, 1995**).

Pour révéler les taches sur la plaque, cette dernière est pulvérisée avec une solution de Ninhydrine, d'une manière homogène. Après révélation, on obtient des taches colorées (spots), caractérisées par leurs rapports frontaux ( $R_f$ ) (**Marouf, 2002**).

Le  $R_f$  est donné par la formule suivante :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par l'échantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

$R_f$  : Rapporte frontale.

## 2.5. Evaluation de l'activité anti-oxydante in-vitro

### 2.5.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode au DPPH

#### ➤ Principe

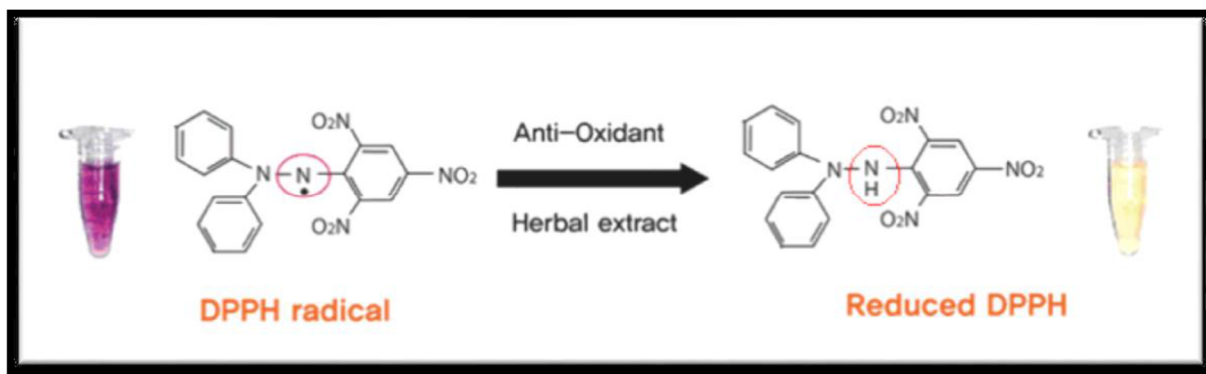
Le DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante (**Brand-williams, 1995**). Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm (**Sanchez Moreno, 2002**). En présence de composés anti radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (**Gachkar *et al.*,2006**). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle

à la capacité de l'antioxydant à donner des protons (**Sanchez-Moreno et al.,2002**).

La réaction est résumée sous la forme de l'équation



Où : (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH.(violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (**Brand-William et al.,1995**) (voir figure 13).



**Figure N° 13.** Forme réduite DPPH et la forme radical du DPPH (**Molyneux, 2004**)

#### ➤ Mode opératoire

L'activité anti-radicalaire de l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine a été évaluée, in vitro, par le test de DPPH. Cette méthode permet de suivre spectrophotométriquement la cinétique de décoloration de radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette à 517 nm (**Boumarfegue et al., 2012**). Pour cela, 50 µl de chacune des différentes concentrations des extraits ont été incubés avec 1.25 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004 %. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. Les résultats obtenus pour chaque extrait testé ont été exprimés par rapport à ceux obtenus pour le BHT pris comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (% I) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit :

$$\% I = \left[ \frac{AC - AE}{AC} \right] \times 100$$

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

AE : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

La concentration inhibitrice de 50 % du DPPH (IC50) de chaque extrait a été par la suite calculée et exprimée en µg/ml et comparée avec celle du BHT.

### 2.5.2. Test de neutralisation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

L'essai de réduction du peroxyde d'hydrogène a été effectué suivant la méthode de (Ruch *et al.*, 1989). Pour ce test, une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (43 mM) est préparée dans du tampon phosphate (0,1 M ; pH = 7, 4). Pour chaque échantillon à tester, 3,4 ml d'une dilution de 100µg/ml préparé dans du tampon phosphate ont été ajoutés à 0,6ml d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,6 ml, 43Mm). La valeur de l'absorbance du mélange réactionnel a été enregistrée à 230nm. Le blanc contient uniquement le tampon phosphate sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le pourcentage de réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (scavenging %) de l'extrait hydro-méthanolique et de l'acide ascorbique a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Scavenging \%} = [(1-Ae)/Ac] \times 100$$

Ac est l'absorbance du contrôle

Ae est l'absorbance en présence de l'échantillon.

### 2.5.3. Test de peroxydation lipidique (TBA-rs)

Le test des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBArS essai) a été également utilisé pour mesurer la capacité antioxydante potentielle des huiles essentielles (Wong, Hashimoto, et Shibamoto, 1995).

L'homogénat du jaune d'œuf préparé dans du KCl 1,15% (p / v) à raison de 10% (p/v) était utilisé comme source riches en lipide. Le jaune d'œuf est homogénéisé pendant 1min, suivie par un traitement aux ultrasons pendant 5 min. Cinq cents microlitres de l'homogénat sont mis dans un tube à essai avec 100 µl de l'échantillon solubilisé dans du méthanol à raison de 100, 250, 500, 750 et 1000 mg /L pour chaque huile, puis le volume réactionnel est complété à 1 ml avec de l'eau distillée, on ajoute 1,5 ml d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 ml de 0,8% (p / v) de 2-thiobabituricacide (TBA) préparé dans 1,1% (p / v) de dodécylsulfate de sodium (SDS). Après agitation au vortex, le mélange est chauffé à 95°C pendant 1 h. Après refroidissement, à température ambiante, 2 ml de butan-1-ol ont été ajoutés à chaque tube, puis agiter et centrifuger à 3000tpm pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm.

La concentration EC 50 qui permet d'inhiber 50% de la peroxydation lipidique est déduite à partir d'une courbe de régression portant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations testées.

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = [(A0 - A1) / A0] \times 100$$

Où A0 étant la valeur d'absorbance du contrôle totalement oxydé et A1, l'absorbance de l'échantillon testé (**Bounatirou, 2007**).

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[ \frac{\text{ABS c} - \text{ABS e}}{\text{ABS c}} \right] \times 100$$

ABS c'est l'absorbance sans l'échantillon

ABS e est l'absorbance avec échantillon (**Govindappa, 2011**).

# *Chapitre N° 2*

*Résultats*

*et discussion*

## 1- Screening phytochimique

Les tests phytochimiques 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 N°2.** Criblage phytochimique d'*O.majorana*

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

Les résultats expérimentaux de tests phytochimiques (**tableau N° 02** ) 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.

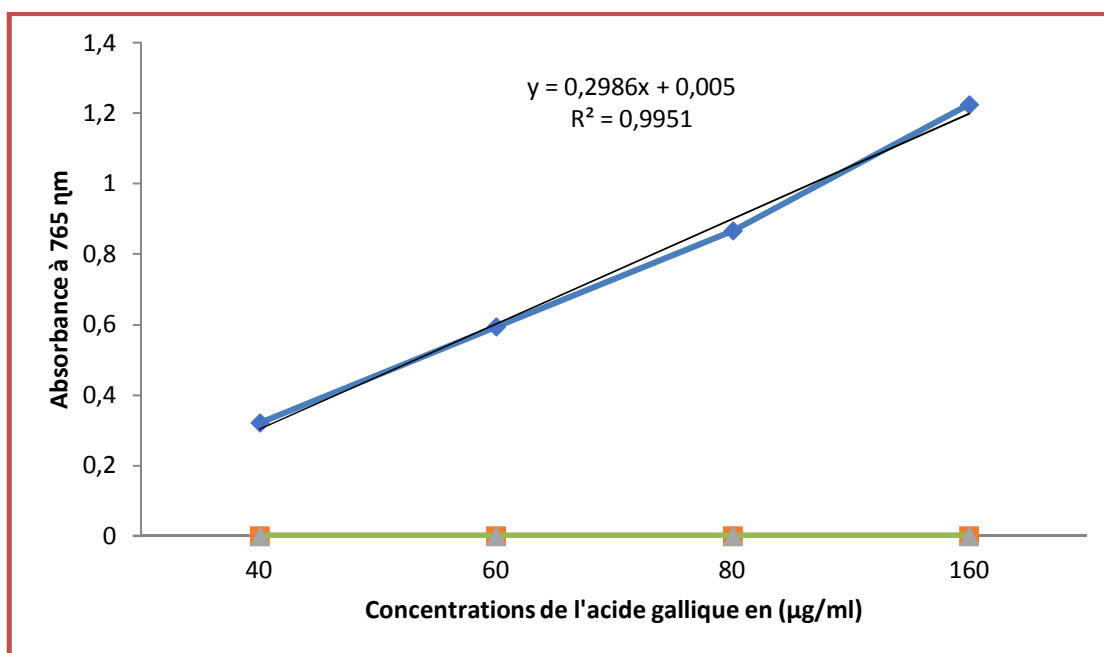
Ces résultats sont en accord avec ceux de **Al-Howirini, 2009** et **Vasudeva, 2015** qui montrent la présence et l'absence des mêmes groupes chimiques dans la plante étudiée. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de plante étudié explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, 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**).

## 2- Dosage de polyphénols totaux :

La teneur en polyphénols a été déterminée par la méthode colorimétrique de folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols dans les plantes médicinales. L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. La courbe d'étalonnage linéaire a été tracé pour cet objectif



et déterminés par l'équation de type :  $y = a x + b$  (**Figure N° 14**) et les quantités des polyphénols correspondantes ont été exprimées en microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{gEqAG}/\text{mg}$  d'extrait).



**Figure N°14.** Courbe d'étalonnage d'acide gallique

Sur la base des valeurs d'absorbance de la solution de L'extrait hydro-méthanolique, qui réagisse avec le réactif de Folin-Ciocalteu et par rapport aux solutions standards d'équivalents de l'acide gallique, une teneur en polyphénols de  $(9.127 \pm 0.002 \mu\text{gEqAG}/\text{mg}$  d'Ext) a été trouvée.

Pour le genre *Origanum*, une étude menée par **Chun et al. (2005)**, montre que la teneur en composés phénoliques de l'extrait aqueux d'*Origanum vulgare*, est de  $(52,8 \text{ mg EAG}/\text{g MS})$ . Elle est légèrement supérieure, pour l'extrait éthanolique à 60%  $(55.35 \text{ mg EAG}/\text{g MS})$ . Ces résultats sont différents à celui obtenu pour la marjolaine dans la présente étude.

La teneur en polyphénols de l'extrait hydro-alcoolique de la marjolaine  $(9.127 \pm 0.002 \mu\text{gEqAG}/\text{mg}$  d'Ext) est très inférieure à celle rapportée par **Skerget et al. (2005)**, qui est de  $(186 \text{ mg EAG}/\text{g})$  pour l'extrait méthanolique d'*Origanum vulgare* de la région de Slovénie.

Ces différences peuvent être expliquées selon **Goli et al. (2005)**, que la teneur en polyphénols totaux dépend du solvant et de la méthode utilisée. Aussi ces différences de résultats peuvent être liées à la différence des conditions climatiques, qui peuvent influencer un rôle dans la synthèse de ces composés secondaires.

### 3. Chromatographie sur couche mince

On a été utilisé le système de solvant suivant (Butanol – Acide acétique – Eau distillé). Le chromatogramme obtenu à 365 nm représente quatre spots (**Voir Figure 15**).



**Figure N° 15. Chromatographie sur couche mince de L'extrait hydro-méthanolique**

Les rapports frontaux sont calculés selon l'équation suivante :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par l'échantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

Le front de solvant=7.1cm.

R<sub>f</sub> de la première tache (rouge) :0.97.

R<sub>f</sub> de la deuxième tache (bleu blanc fluorescent) :0.85.

R<sub>f</sub> de la troisième tache (bleu) :0.70.

R<sub>f</sub> de la quatrième tache (bleu) :0.59.

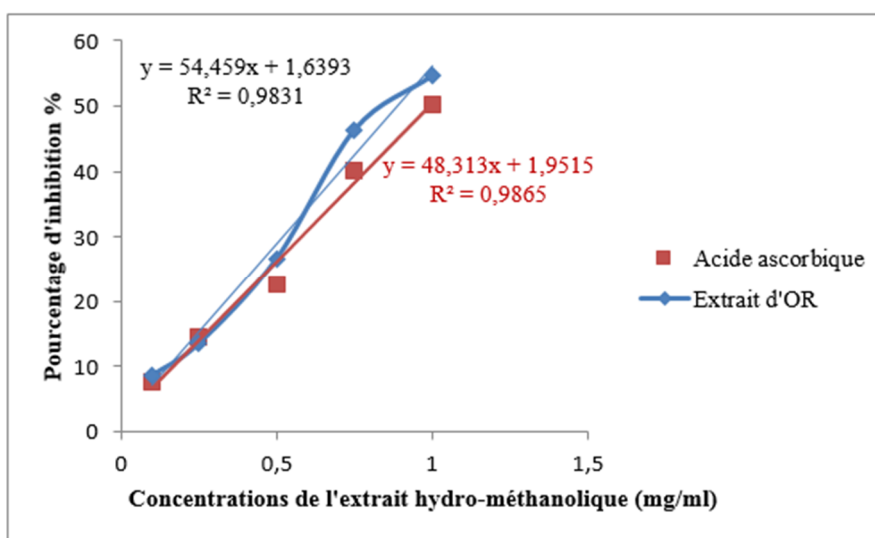
la chromatographie sur couche mince qui est effectuée sur l'extrait hydro-méthanolique a permis de confirmer la présence des composés poly-phénolique dans notre plante.

## 4. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de réduction du radical DPPH, le test de neutralisation l'  $H_2O_2$  , et le test de TBAr.

### 4.1. Test de DPPH

Une solution méthanolique de DPPH• (2-2-diphényl-1-picrylhydrazyl) présente une coloration violette sombre en présence d'un antioxydant, la forme réduite de DPPH-H confère à la solution une coloration jaune, et par conséquent une diminution de l'absorbance (Perez *et al.*, 2007).



**Figure N° 16.** Evaluation de pourcentage d'inhibition d'oxydation par le radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine.

(Les résultats sont la moyenne de trois lectures)

L'activité anti radicalaire de l'extrait hydro-méthanolique a été évaluée par la méthode de la réduction du radical DPPH• a permis de déterminer les valeurs de EC50 (Concentration qui réduit 50% du radical libre).

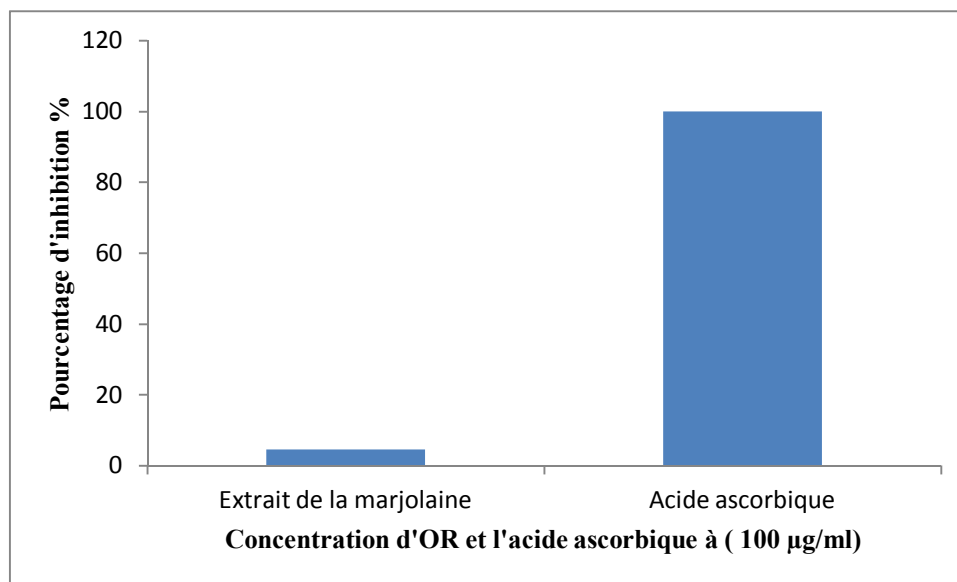
D'après la courbe (Voir **figure 16**), les valeurs des EC50 pour l'extrait préparé et la vitamine C sont consécutivement  $0,88 \pm 0,001$  mg/ml et  $0,99 \pm 0,001$  mg/ml. Il a été enregistré que le pouvoir scavenger de l'extrait hydro-méthanolique est plus élevé que celui de la vitamine C.

**Al-Howiriny (2009)** a montré l'existence de différents composés chimiques tels: les flavonoïdes, les tannins, et les stérols. Ces derniers sont dotés d'un pouvoir antioxydant et d'une capacité à céder d'hydrogène (donneur d'hydrogène) afin de piéger les radicaux libres.

Les mêmes résultats sont obtenus par **Lean et Mohamed, 1999; Sellami *et al.*, 2009 ;Bertelson et Medsen, 1995 ; Yasin et Abou-Taleb, 2007.**

#### 4.2. Test de neutralisation H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique préparé a également été évaluée *in vitro* en utilisant le test de neutralisation H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Les résultats de ce test sont illustrés dans la figure ci dessous (**Voir figure 17**).

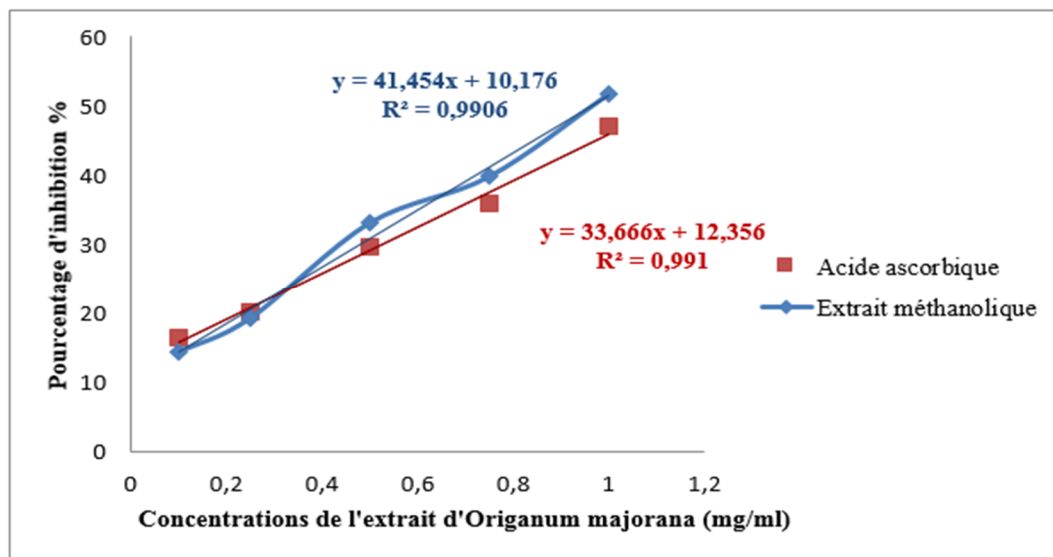


**Figure N° 17.** Pourcentages de l'effet scavenger de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exercé par l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine et l'acide ascorbique.

Selon les résultats obtenus, le scavenger de l'extrait préparé est plus faible (4,42%) à celui de l'acide ascorbique à 100 µg/ml. Ceci est probablement dû à son faible pouvoir à neutraliser l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 4.3. Test de peroxydation lipidique de TBA sur le jaune d'œuf

Le test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est réalisé afin de quantifier le malonaldéhyde (MDA), qui est l'un des produits secondaires de la peroxydation lipidique. La figure (N° 18) représente les résultats obtenus.



**Figure N° 18.** Pourcentage d'inhibition de l'MDA en fonction de différentes concentrations de l'extrait préparé.

La meilleure activité anti-péroxydation a été observée avec l'extrait hydro-méthanolique de la marjolaine et l'acide ascorbique avec une EC50% de  $0,96 \pm 0,001$  mg/ml et  $1,11 \pm 0,001$  mg/ml respectivement.

Nos résultats révèlent que cet extrait possède une activité antioxydante très importante. **Hussain et al ;2011** ont montré que l'huile essentielle des parties aériennes de l'*O. majorana* possède une activité antioxydante très importante avec  $IC_{50} = 89,2$  µg/ml. Les mêmes observations sont faites par **Ahmed, Abdelmalek et Yagoubi, 2017** avec une  $IC_{50} = 30$  mg/ml. Par contre les résultats obtenus sont contradictoires à ceux publiés par **Guerra-Bonne et al., 2015** qui montrent que l'*Origanum* du Mexique n'a aucun effet antioxydant.

Le pouvoir réducteur peut être dû à la variabilité de la composition chimique de l'extrait hydro-méthanolique et aussi aux conditions agro-climatiques ( $T^{\circ}$ , ...etc). Selon **Lan-seur;2017** le pouvoir antioxydant des plantes est en relation avec la saison de la récolte.

*Conclusion et  
perspectives*

## Conclusion et perspectives

En conclusion l'extrait hydro-méthanolique d'*Origanum majorana* a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins catéchiques, de mucilages et de glycoside. En revanche, Il ne contient pas des alcaloïdes. En absence des ces derniers on montre que notre plante n'est pas toxique.

La marjolaine a exercé une activité anti radicalaire importante par rapport à la vitamine C que ce soit pour le test du DPPH ou TBARS. Cependant le scavenger de cet extrait possède une activité faible à neutraliser l' $H_2O_2$ .

Selon cette étude, on peut dire que la marjolaine peut être utilisée comme source naturelle prometteuse de substances anti-oxydantes.

En perspective, d'autres tests *in vivo* sont requis pour donner plus de détail concernant les différentes activités biologiques possibles (Anti-inflammatoire, antifongique,... etc) et les mécanismes d'action de cet extrait. De plus, il est nécessaire d'extraire et d'isoler les substances actives contenues dans cet extrait pour les étudier séparément ou en synergie, ce qui peut donner plus de précision concernant leur effet bénéfique.

## Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de l'extrait hydroalcoolique des feuilles d'*Origanum majorana* disponibles au marché de la région de Oued-Zenati Wilaya de Guelma en tant qu'antioxydant ou bien réducteur de radicaux libre. Le screening phytochimique de cet extrait a révélé la présence de Polyphénols, de Tannins catéchiques, de Flavonoïdes, de Saponosides, de mucilage et des glycosides et l'absence de tannins galliques, de coumarines et des alcaloïdes. La méthode appliquée pour mesurer l'activité antioxydante est celle du piégeage des radicaux libres à l'aide du 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, test de peroxydation lipidique à l'acide thiobarbiturique et le test de neutralisation H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Les résultats obtenus ont montré que cet extrait manifeste possède une activité antioxydante importante. Pour cette dernière, l'inhibition de 50% du radical DPPH et de l'acide thiobarbiturique c'est à la concentration de 0.88±0,001mg/ml et de 0,96±0,001 mg/ml respectivement.. Cependant, l'extrait de notre plante a marqué une faible activité de neutraliser le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## Abstrat

This work is part of the development of the hydroalcoholic extract of *Origanum majorana* leaves available on the market in the Oued-Zenati Wilaya region of Guelma as an antioxidant or free radical reducer. Phytochemical screening of this extract revealed the presence of Polyphenols, Catechic Tannins, Flavonoids, Saponosides, mucilage and glycosides and the absence of gallic tannins, coumarins and alkaloids. The method used to measure antioxidant activity is the free radical scavenging method using the DPPH-, TBARS test and the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> neutralisation test. The results obtained showed that this extract exhibits significant antioxidant activity. For the latter, the inhibition of 50% of the DPPH radical and thiobarbituric acid is at the concentration of 0.88±0.001mg/ml and 0.96±0.001 mg/ml respectively. However, the extract from our plant marked a low activity to neutralize H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## ملخص:

هذا العمل يندرج تحت إطار تقييم فعالية المستخلص الكحولي لأوراق عشبة البردقوش كمضاد للأوكسدة، والمتواجدة بسواق منطقة وادي الزناتي ولاية قالمة. أثبتت التحاليل الكيميائية أنّ هذا المستخلص يحتوي على المواد الأتية: ( Polyphénols, Tannins catéchiques, Flavonoïdes, Saponosides, mucilage, glycosides ) غير أنّه لا يحتوي على المواد الثلاثة الأتية: (tannins galliques, coumarines, alcaloïdes). التّقنيات المستعملة لتقييم فعالية هذا المستخلص كمضاد للأوكسدة هي تقنية تثبيط الجذور الحرّة باستعمال: ( Test du



(DPPH) و (Test du TBARS) و تقنية تحييد الهيدروجين (Test de neutralisation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). حيث بينت النتائج أن أوراق البردقوش تملك فعالية عالية كمضاد للأكسدة بحيث أدها قدرة على تثبيط 50% من الجذور الحرة DPPH و كذلك مادة المالونالديهيد بتركيز يقدر بـ: 0.88±0.001 mg/ml و 0.96±0.001 mg/ml على التوالي. إلا أدها تملك قدرة ضئيلة على تحييد الهيدروجين.

## **1 .Produits chimiques et réactifs**

### **1 .1.Partie phytochimique**

- Méthanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>, HCl, NaOH, NH<sub>4</sub>OH, Ethanol.
- Réactif de stiansy, Réactif de MAYER.
- Acétate de sodium, acide tartrique, Réactif de Fehling.
- Réactif de Folin-ciocalteau, Carbonate de sodium, acide gallique.
- Butanol, acide acétique, ninhydrine.

### **1.2 .Partie biologique**

- DPPH (2,2 diphenyl 1 picrylhydrazyl) .
- Méthanol MeOH.
- Acide ascorbique.
- peroxyde d'hydrogène(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).
- KCl.
- 2-thiobabaturicacide(TBA).
- Dodécylsulfate de sodium (SDS).
- Acide acétique.
- Butan-1-ol.

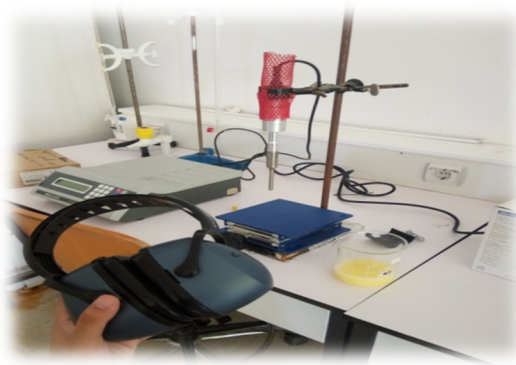
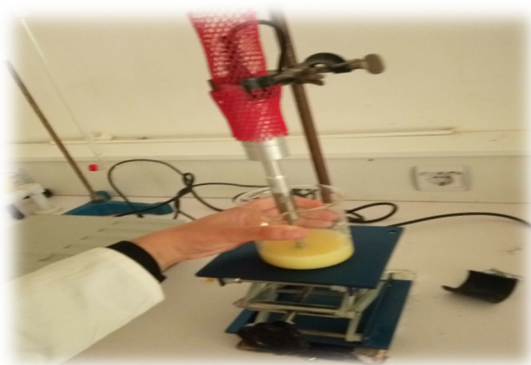
## **2 .Equipements**

- Rotavapeur R-215 (Bûchi).
- Plaque chauffante.
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305).
- Cuve de chromatographie.
- Balance (BB310) et (Sartorius).

- Balance de précision (Explorer® Pro).
- Verreries.
- Bain marré.
- Tubes capillaires.
- Agitateur Vortex (snijders 34524).
- Ultra- turrax (IKA T18)
- Centrifugeuse (Sigma 2-16).
- pH mètre
- UV.



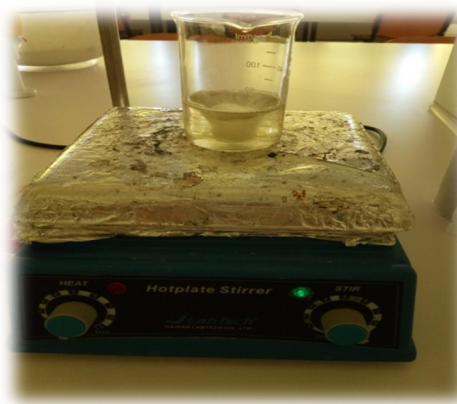
Evaporateur rotatif



Ultra-turrax



Centrifugeuse



Agitateur magnétique

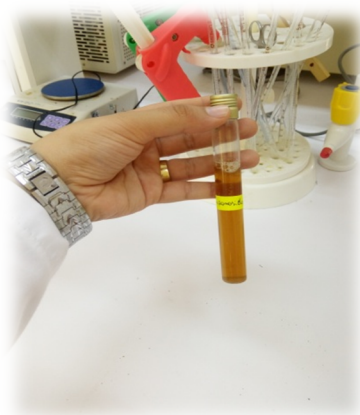
### 3. solutions utilisées

**Tampon phosphate** :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (14.1g) dans 500ml d'eau distillée+  $\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_4\text{P}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (15.6g) dans 500ml d'eau distillée, avec  $\text{pH}=7.4$ .

**Réactif de Mayer composition** : Iodure de potassium (KI) 25 g, chlorure mercurique( $\text{HgCl}_2$ ) 6,8 g, eau distillée (1000 ml).

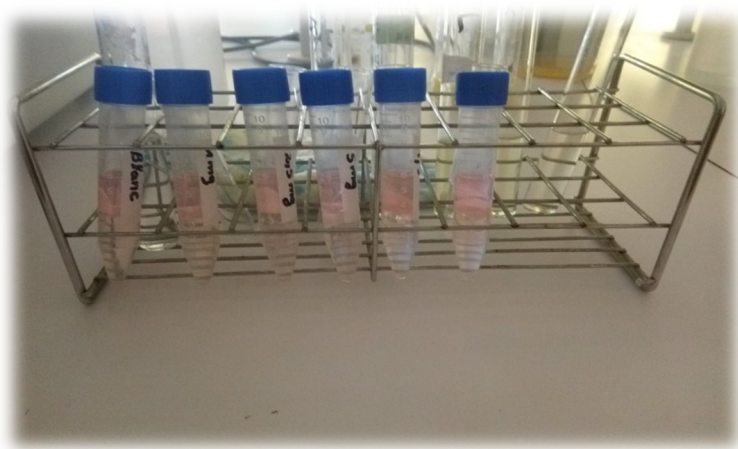
**Réactif de stiasny composition** : 10 ml de formol à 40% + 5 ml de HCl concentré.

### 4. Photos prises au cours du travail expérimental





Tests phytochimiques



Surnagent obtenu après centrifugation au cours du test de peroxydation lipidique (TBA)

## 5. Schémas explicatifs des tests étudiés

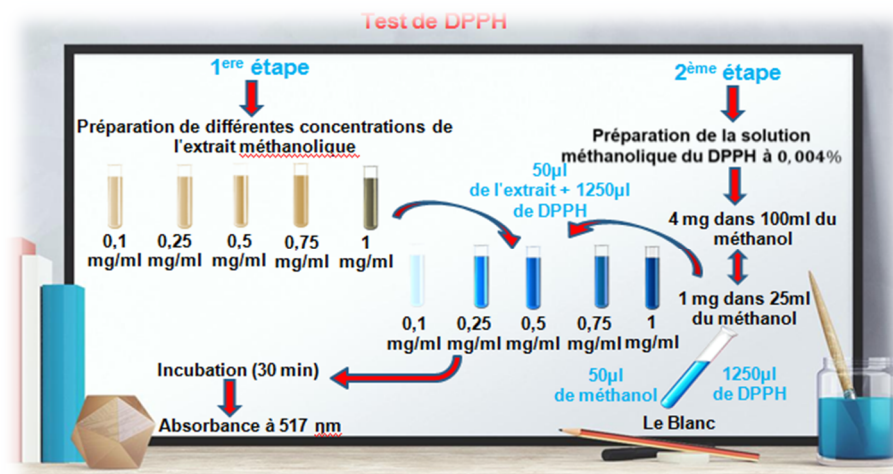


Schéma explicatif du test d'évaluation de l'activité antioxydante par le DPPH

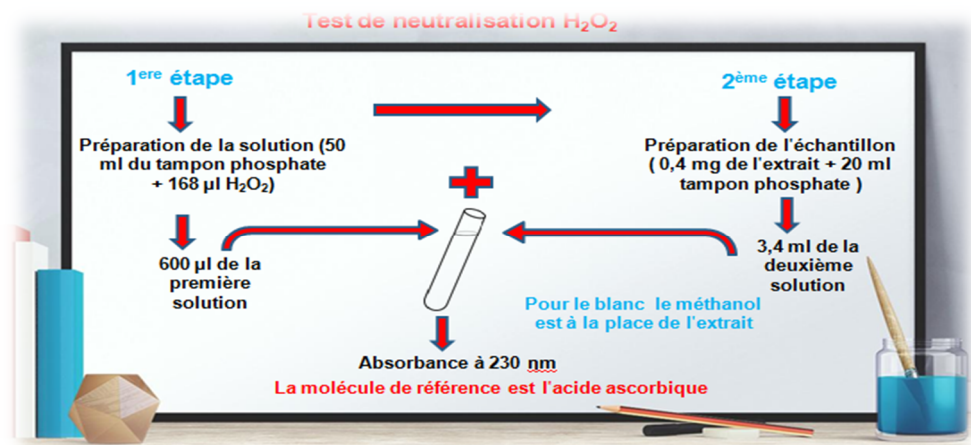


Schéma explicatif du test de neutralisation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

## *Références bibliographiques :*

### **A**

- ❖ **Afnor,2000**, Huiles essentielles, Echantillonnage et méthodes d'analyse monographis relatives aux huiles essentielles(Tome2).
- ❖ **Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-TorresE., Aguilar C N. (2008)**. Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. Applied Microbiology and Biotechnology. 78: 189-199.
- ❖ **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.
- ❖ **Amič D., Davidović-Amić D., Beslo D. & Trinajstić N., 2003**. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croat. Chem. Acta.* **76**: 55-61.

### **B**

- ❖ **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* **1996**; 46: 1086-1089
- ❖ **Barlow S.M., 1990**. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In: Hudson B.J.F. Food antioxidants. Ed. Elsevier, London. pp: 253-307.
- ❖ **Barouki, R. (2006)**. Stress oxydant et vieillissement. *m/s*, 22: 266-72.
- ❖ **Bayala, B. (2014)**. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur d'université. Université Blaise Pascal. 141p.

- ❖ **Beddou F.** Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse de doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie, Université de Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, **2015**,144.
  
- ❖ **Benchikha N .,Menaceur Z B.(2013)** -Extraction and antioxydante activité of two species *origanum* plant containing phenolic and flavonoid compounds., journal of fundamental and applied sciences.,5(1) .,120-128p.
  
- ❖ **Bennick,A.(2002)**.Interaction of plant polyphenols withsalivary proteins. Crit Rev Oral Boil Med, 2: 184-196.
  
- ❖ **Bernard, M; Metche, M. (1980)**. Polymères végétaux (Biochimie Appliquée). Paris: 252-253.
  
- ❖ **Bertelsen G.et Madsen H. L.** Spice as antioxydant. *Trends in Food Science & Technology*. August **1995** [Vol. 61]
  
- ❖ **Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M.** Les plantes dans la thérapeutique moderne,2ème édition révisée, Ed. Maloine éditeur, **1986**.
  
- ❖ **Binov L., 2001.** Oxydants/antioxydants : un équilibre important. **68**: 53-62.
  
- ❖ **Boumerfeg S., Baghiani A., Djarmouni M., Ameni D., Adjadj M., Belkhir F., Charef N., Khennouf S. and Arrar L. (2012)** Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts. *Chinese Medicine*, 3; 30-41.
  
- ❖ **Bounatirou S., SmitiS., Miguel M.G., Faleiro I., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedroe L.G., 2007.** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activité of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link.*Food Chemistry* 105: pp: 146-155.
  
- ❖ **Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food SciTechnol*. 28:25–30.
  
- ❖ **Bubonja-Sonje M., Giacometti J. & Abram M., 2011.** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chem*. **127**: 1821-1827.



## C

- ❖ **Cano N., Barnoud D., Schneider S., Vasson M.P., Hasselmann M. & Leverve X., 2007.** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. 3ème Edition. Ed. Springer Verlag, Paris.
- ❖ **Chickoune A.(2007)**-Huiles essentielles de thym et d'Origan étude de composition ,de l'activité antioxydant antimicrobienne .,mémoire de magister. Institut nationale agromomique El Harrach-Alger
- ❖ **Chun S.S., Vatter D.A., Lin Y.T. et Shetty K.(2005).** Phénolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*.**40**:809-816.
- ❖ **Chung, Y. K., H. J. Heo, E. K. Kim, T. L. Huh, Y. Lim, S . K. Kim & D. H. Shin:** Inhibitory effect of ursolic acid purified from *Origanum majorana* L. on the acetylcholinesterase. *Mol. Cells* **2001**, 11, 137–143.
- ❖ **Cillard, J., et Cillard P.** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations.*OCL* 2006; 13:24-29.
- ❖ Cowan M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(4): 564- 582.

## D

- ❖ **Davies, K.J.A. (2000).** Critical review oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50: 279–289.
- ❖ **Debete J-M. (2005).** Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans*Vahl (Caesalpinaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad. Thèse Doctorat. Bamako : Université de Bamako p : 79.
- ❖ **Debuigne G.** Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse, **1974**.
- ❖ **Delattre J., Durand G. & Jardillier J.C., 2003.** Biochimie pathologique aspects moléculaires et cellulaires. 2ème édition. Ed. Médecine-science Flammarion, Paris.
- ❖ **Delaveau Pierre,** Expliquez–moi les plantes, voyage en botanique – Pharmathèmes, **2003**.

- ❖ **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A. & Capasso F., 1999.** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* 65 (4): 337-53.
- ❖ **Diallo D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros* Thèse de doctorat, Lausanne, 148-176.
- ❖ **Drew B.T. Et Sytsma K.J. - 2012 -** *Phylogenetics, biogeography, and staminal evolution in the tribe Mentheae (Lamiaceae)* – *American Journal of Botany* 99 (2012) 933-953
- ❖ **Dubois J., Miterrand H., D Dauzat A. -2006** –Dictionnaire étymologique et historique du français –Larousse.
- ❖ **Dupont Frédéric et Guignard Jean-Louis – 2007 –** *Botanique systématique moléculaire - 14<sup>ème</sup> édition* – Éditions Masson

## E

- ❖ **Edeas, M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5(5), 264-270.
- ❖ **Edeogal H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of biotechnology* Vol. 4(7). P: 685-68.
- ❖ **Edouard et al.** *Botanique systématique des plantes à fleurs* (2<sup>ème</sup> édition) – presses polytechniques et universitaires romandes, 2002.
- ❖ **Ekoumou C. (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse Doctorat. Bamako : Université de Bamako. P : 63.

## F

- ❖ **Fathy M., Soliman., Miriam F., Youcif., Soumaya S. Zaghiloul. (2009)**-seasonal variation in the essential oil composition of *Origanum majorana* L. cultivated in Egypt., *naturforsch.* ,(64)., 611–614p.

- ❖ **Favier A., 2003.** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique.* 108-115.
- ❖ **Ferrari J (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thym et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidiainvolucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse Doctorat : Université Lausanne p : 125.
- ❖ **Fournier Paul,** Les quatre flores de France – **Dunod, 1934– 1940.** Spichiger Rodolphe-
- ❖ **Furia, T. E., & Bellanca, N. (1971).** Fenaroli's handbook of favor ingredients, The Chemical Rubber Co., Cleveland, OH.

## G

- ❖ **Gabor M., Cody V., Middleton E. J., Harborne J. B., Beretz A., Liss A. R. 1988.** Plants Flavonoids in biology and Medicine II. Biochemical, Cellular and Medecinal properlies, New York, pp:1-15.
- ❖ **Gauriat, E. (2015).** Accompagnement d'une rééducation physique post-traumatique par l'aromathérapie. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Limoges. 150p.
- ❖ **Gee J.M. & Johnson I.T., 2001.** Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Curr. Med. Chem.* **8:** 1-182.
- ❖ **Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M.,** Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. and Food Chemist.* **53** (2005)1370-1373
- ❖ **Goli A.H Barzegar M. Et Sahari M.A.( 2005).** Antioxydant activity and total phenolic compounds of pistachio (*pistachiavera*) hull extracts. *Food Chemistry.* **92:**521-525.
- ❖ **Govindarajan, R., Vijayakumar, M. et Pushpangadan, P. (2005).** Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana' herbs of Ayurveda. *J. Ethnopharmacol,* **99:** 165–178.
- ❖ **Gruffat X.** Définition de la phytothérapie [Internet]. **2017.** Disponible sur:

- ❖ **Guignard, J.M. (1979).** Abrégé de biochimie végétale, 2eme édition Masson, Paris:290.
- ❖ **Guignard J.;(1996).** Biochimie végétale. Ed. Lavoisier, Paris. pp :175-192.

## H

- ❖ **Harborne J.B. & Williams C.A., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. **55**: 481-504.
- ❖ **Heilerová L., Bučková M., Tarapčík P., Šilhár S. et Labuda J. 2003.** Comparison of Antioxidative Activity Data for Aqueous Extracts of *Lemon Balm (Melissa officinalis L.)*, *Oregano (Origanum vulgare L.)*, *Thyme (Thymus vulgaris L.)*, and *Agrimony (Agrimonia eupatoria L.)* obtained by Conventional Methods and the DNA-Based Biosensor. *Czech J. Food Sci.* 21 (2), 78–84.
- ❖ **Hellal, M. (2007).** Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones dérivées de l'azélastine: Synthèses et activités anti-cytokine. Thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'université Louis Pasteur (Strasbourg I). Université Louis Pasteur (Strasbourg I). 324p.
- ❖ **Hussain I., Anwar F., Rashid S., Nigam P., Janneh O., Sarker S.(2011)**-composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in pakistan .,brazilian journal of pharmacognosy.,1-11p. hydroxylanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Mol. Pharmacol.* **58**: 431- 437.

## I

- ❖ **illard J.** Physiopathologie du Stress Oxydant: Faculté de Pharmacie Université de Rennes « Mouvement-Sport-Santé » **2011.**
- ❖ **Institut Européen des Substances Végétales** (page consultée le 15/10/08). Phytothérapie clinique individualisée : pour une médecine des substances végétales.

## K

- ❖ **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.
- ❖ **Khambalee K et Ree T. R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18:641-649.
- ❖ **Kintzios Spiridon E. - 2002 -** *Oregano : The Genera Origanum and Lippia (Medecinal and Aromatic Olants -Industrial profiles)* -Taylor&Francis.

## L

- ❖ **Laguerre M., Lecomte J. & Villeneuve P., 2007.** Evaluation of the ability of antioxi-dants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Prog. Lipid Res.* 46: 244-282.
- ❖ **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., & Carde J.P., 1994.** Biogénèse des monoterpènes, I-localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* 133: 69-78.
- ❖ **Lanseur R. (2017)-** Evaluation in-vitro des activités anti-oxydante et anti inflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* seules et en combinaison .,mémoire de master., Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- ❖ **Le K., Chiu F. & Ng K., 2007.** Identification and quantification of antioxidants in *Fruc-tus lycii*. *Food Chem.* 105: 353-363.
- ❖ **Lean, L.P. et Mohamed S. (1999).** Antioxidative and antimycotic effect of turmeric, lemon-grass, betel eaves, clove, black pepper leaves and *Garcinia atriviridis* on butter cakes. *J. Sci. Food Agric*, 79: 1817-1822.
- ❖ **Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. & Prost M., 2001.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Presse med.* 30(21): 1076-1081.

- ❖ **Lin C.; Chen, C.; Chen, C.;Liang, Y. and lin, J. (2002).** Molecular modeling of flavonoids that inhibits Xanthine oxidase. *Biochemical Research Communications*, 294:167-172.
- ❖ **Lin, W-W. et Karin, M. (2007).** A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J. Clin. Invest*, 117: 1175–1183.

## M

- ❖ **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux :un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.
- ❖ **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E et Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food-Chemistry*89. P: 411-420.
- ❖ **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 Anta Diop de Dakar :pp53.
- ❖ **Mensor L. L., Menezes F. S., Leitão G. G., Reis A. S., Santos T. C., Coube C. S. et Leitão S. G. 2001.** Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phy- tother. Res.* 15, 127-130.
- ❖ **Merghem R., Jay M., Viricel Viricel M.R., Bayet C., and Voirin B. (1995).** Five 8-C- benzylated flavonoids from *Thy mushirtus(Labiatea)*. *Phytochemistry*. Vol (38), p :637-640.
- ❖ **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science. Technology*26 (2) : 211- 219.
- ❖ **Moreau B.,** maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie, **2003**.

## N

**Ndoye Foe, F.M.C., Kemegni Tchintang, T.F., Nyegue, A.M., Abdou, J-P., Gbaweng Yaya, A.J., Tchinda, A.T., Oyono Essame, J-L. et Etoa F-X. (2016).**

- ❖ Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16:117.

## O

- ❖ **O’Kennedy R. & Thornes R.D., 1997.** Coumarins: biology, applications and mode of action. Ed. John Wiley & Sons Inc., New York.

## P

- ❖ **Paris M., Hurabielle M.; (1981).** Abrégé de matière médicale «Pharmacognosie». Tome 1, Generalities, Morphologies. Ed. Masson, Paris. pp : 256-266.
- ❖ **Paul Schauenberg, Ferdinand Paris.** Guide des plantes médicinales. Éditions **Dela-chaux et Niestlé 2010.**
- ❖ **Payer J. B.** De la famille des Malvacées –thèse de médecine, Paris –Editeurs Rignoux, **1852.**
- ❖ **Peronny S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d’histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie .p151.
- ❖ **Poubelle, P.E. et Borgeat, P. (2000).** Perspectives thérapeutiques de l’inflammation. *m/s*, 16: 917-23.

## Q

- ❖ **Quézel P. & Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

## R

- ❖ **Reichl F.X., Benecke J., Benecke M., Eckert K.G., Erber B., Golly I.C., Kreppel H., Liebl B., Muckter H., Szinicz L. & Zilker T., 2004.** Guide pratique de toxicologie. 1<sup>ère</sup> éd. Ed. De Boeck Université, Bruxelles.
- ❖ **Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M. et Aggarwal, B.B. (2010).** Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?. *Free Rad Bio Med*, 49:1603–1616.
- ❖ **Rice-Evans C.A., Miller N.J. & Paganga G., 1996.** Structure-antioxydant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* **20(7)**: 933-956.
- ❖ **Richter G.(1993).** Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. pp: 317-339.
- ❖ **Rihane K et Benlaharache R. (2013)** activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d'extraits à partir de deux plantes médicinales : artémisia herba alba et ocimum basilicum sur escherichia coli et staphylococcus aureus. Mémoire de master université mentouri constantine.
- ❖ **Rizk A.M., 1982.** Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia.* 52(2) : 35-42. Chaouch N, 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 2001, 44.
- ❖ **Rock E., 2003.** Stress oxydant, micronutriments et santé. INRA – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments, Université d'été de nutrition Clermont-Ferrand, France. pp: 37-42.
- ❖ **Roux D., Catier O., 2007.** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3<sup>ème</sup> Edition, wolters Kluwer. P 141.



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

## S

- ❖ **Salier, J-P., Rouet, P., Banine, F. et Claeysens, S. (1997).** Transcription des gènes de protéines plasmatiques dans le foie au cours de l'inflammation aiguë systémique. *m/s*, 13: 335-44.
- ❖ **Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*.8. P: 121-137.
- ❖ **Sandhar H K, Kumar B , Prasher S, Tiwari P, Salhan M and Sharma P (2011).** A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*,1 (1), 25-41.
- ❖ **Sanju B., Sanju D.,Pinder P.,(2016)** -Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts.,2(4).,168-174p.
- ❖ **Sellami I. H. et al. (2009).** Sellami I. H., Maamouri E, Chahed T., Wannes W. A., Kchouk M. E., Marzouk M. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and Phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) *Industrial Crops and Products*.WoX : 30 (2009) 395-402.
- ❖ **Simmonet X., Quennoz M., Bellenot D., Pasquier B .(2011)** -évaluation agromonomique et chimique de différentes espèces d'origan. suisse viticulture, Arboriculture, Horticulture .,(43)6.,344–349p.
- ❖ **Skerget M., Katnik P., Hadolin M., Hros A.R., Simonic et KnezZ .(2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidants activities. *Food chemistry*. 89:191-198.
- ❖ **Soliman F. M., Youcif M. F., Zaghiloul. S., and Okba M. M. (2007),** *Comparative botanical study, DNA fingerprinting and proximate analysis of Origanum syriacum L.*

*subsp. sinaicum* Greuter and Burdet and *Origanum majorana* L. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* 45, 157 – 180

- ❖ **Srdan V. Stankov. (2012).** Definition of inflammation, causes of inflammation and possible anti-inflammatory strategies. *Open Inflamm. J*, 5: 1-9.
- ❖ **Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D., 2002.** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic- electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography A* 967: 85-113.

## T

- ❖ **Taofiq, O., Martins, A., Barreiro, M.F., and Ferreira, I.C.F.R. (2016).** Anti-inflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. *Trend. Food Sci. Technol.*, 50: 193–210.

## V

- ❖ **Van Acker S., Van Balen G.P., Van den Berg D.J. & Van der Vijgh W.J.F., 1996.** Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 56: 935– 943.
- ❖ **Verdan A.M., Wang H.C., García C.R., Henry W.P. & Brumaghim J.L., 2011.** Iron binding of 3-hydroxychromone, 5-hydroxychromone, and sulfonated morin: Implications for the antioxidant activity of flavonols with competing metal binding sites. *J. Inorg. Biochem.* 105: 1314-1322.
- ❖ **Verdar.R. et -Mingj. (1999),** Chemical composition of the essential oil of *marjoram* (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chemistry* 66 (1999) 143\_145.

## W

- ❖ **Wang J. et Mazza G. 2002.** Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compoundson the Production of Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  in LPS/IFN- $\gamma$ - Activated RAW 264.7Macrophages. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4183-4189.
- ❖ **Wong, J. W., Hashimoto, K., & Shibamoto, T. (1995).** Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2707–2712.
- ❖ **Woodman O.L., Meeker W.F. & Boujaoude M., 2005.** Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonols and flavones. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 46: 302-309.

## Y

- ❖ **Yasin M.N. et Abou-Taleb M.** Antioxidant and Antimicrobial Effects of Marjoram and Thyme in Coated *Refrigerated Semi Fried Mullet Fish Fillets*. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. Vol: 2 (1): 01-09, 2007.
- ❖ **Yougbaré-Ziébrou, M.N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., Sawadogo, W.R., et Guissou, I.P.(2016).** Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon(Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14: 213–219.
- ❖ **Yu R., Mandlekar S. & Tony Kong A.N., 2000.** Molecular mechanisms of butylated.

## Z

- ❖ **Zenasi L.(2014)**-Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de thymus satureioides Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne .,thèse doctorat .,Université Mohammed V-Agdal.
- ❖ **Zenk, M.H., Juenger, M. (2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review* 68, 2757 – 2772.
- ❖ **Zieliński,H., Zielińska,D., and Kostyra H. (2012).**Antioxidant capacity of a new crispy type food products determined by updated analytical strategies.*Food Chem*,130: 1098-1104.