

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

Université 8 Mai 1945 Guelma

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

Département de biologie



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de
Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biochimie appliquée

**Thème : Comparaison de l'activité biologique de deux
extraits d'*Origanum majorana***

Présenté par :

- Mahmah Aya
- Mezigheche Nedjla
- Rehamnia Souad
- Segouali Amine

Devant le jury

Président(e) :	Hami.M	M.C.B	Univ-Guelma
Examineur :	Hamdiken.M	M.C.B	Univ-Guelma
Encadreur :	Ayed.H	M.C.B	Univ-Guelma
Co-encadreur :	Merabet.R	M.A.A	Univ-Guelma

Juin 2022

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste d'abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : La phytothérapie et les plantes médicinales

1. Phytothérapie.....	2
1.1. Définition.....	2
1.2. Différents types de la phytothérapie.....	2
1.2.1. Aromathérapie.....	2
1.2.2. Gemmothérapie.....	2
1.2.3. Herboristerie.....	3
1.2.4. Homéopathie.....	3
1.2.5. Pharmaceutique.....	3
1.3. Avantages et efficacité de la phytothérapie.....	3
1.4. Inconvénients et limites d'utilisations de la phytothérapie	4
2. Plantes médicinales.....	5
2.1. Définition.....	5
2.2. Historique.....	5
2.3. Efficacité des plantes entières.....	5
2.4. Mode de préparation des plantes pour la phytothérapie.....	5

2.5. Eléments actifs des plantes	6
2.6. Principaux groupes.....	7
2.6.1. Composés phénoliques.....	7
2.6.2. Alcaloïdes	8
2.6.3. Composés terpéniques.....	9
2.7. Utilisation.....	9
2.8. Plantes médicinales en Algérie.....	9

Chapitre 02 : Généralité sur la Marjolaine

1. Description botanique de la famille lamiacée.....	11
2. Genre <i>Origanum</i>	11
2.1. Nomenclature.....	12
2.2. Position systématique.....	12
2.3. Présentation botanique du genre <i>Origanum</i>	12
3. Marjolaine.....	16
3.1. Historique.....	16
3.2. Définition.....	17
3.3. Description botanique.....	17
3.4. Taxonomie.....	18
3.5. Répartition géographique	19
3.5.1. Dans le monde.....	19
3.5.2. En Algérie.....	19
3.6. Composition chimique d' <i>Origanum majorana</i>	20
3.7. Utilisation et posologie de la marjolaine.....	20
3.8. Propriétés médicinales de la marjolaine.....	20

Chapitre 03 : Activités biologiques

1. Radicaux libres.....	22
1.1. Différents types de radicaux libres	22
1.1.1. Radicaux libre primaire.....	22
1.1.2. Radicaux libre secondaire.....	23
1.2. Rôle des radicaux libres chez les plantes.....	23
2. Stress oxydatif.....	23
3. Antioxydants.....	24
3.1. Rôle des antioxydants.....	24
3. 2.Types d'antioxydants.....	25
3.2. 1.Antioxydants naturels.....	25
3.2.2. Antioxydants synthétiques.....	28
3.3. Méthode d'étude d'activité des antioxydants des plantes médicinales.....	28
3.3.1. Méthode du piégeage du radical libre DPPH	30

Partie expérimental

Chapitre 01 : Matériel et méthodes d'analyse

1. Matériel biologique.....	32
2. Méthodes.....	32
2.1. Détermination de la teneur en eau	32
2.1.1. Mode opératoire.....	32
2.2. Screening phytochimique.....	32
2.2.1. Mise en évidence des flavonoïdes.....	33
2.2.2. Mise en évidence des saponosides.....	33
2.2.3. Mise en évidence des tanins.....	33

2.2.4. Mise en évidence des mucilages.....	34
2.2.5. Mise en évidence des coumarines.....	34
2.2.6. Mise en évidence des glycosides.....	34
2.2.7. Mise en évidence des alcaloïdes.....	34
2.3. Préparation des extraits.....	34
2.3.1. Extrait aqueux.....	34
2.3.2. Extrait hydrométhanolique.....	35
2.4. Détermination du rendement.....	35
2.5. Dosage des polyphénols totaux.....	38
2.6. Dosage des flavonoïdes.....	38
2.7. Chromatographie sur couche mince.....	39
2.8. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH.....	40

Chapitre 02 : Résultats et discussion

1. Expression des résultats de la teneur en eau.....	42
3. Détermination du rendement d'extraction.....	42
2. Screening phytochimique.....	43
4. Dosage des polyphénols.....	44
5. Dosage des flavonoïdes.....	45
6. Chromatographie sur couche mince.....	46
7. Evaluation de l'activité antioxydant (DPPH).....	47
Conclusion.....	49

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.

On tient à exprimer nos gratitude à Mme Hamdiken M .M.C.B et Mme Hami M.M.A.A à l'Université de 08 Mai 1945 de Guelma pour avoir accepté de juger ce travail.

On voudrait remercier notre directeur de mémoire Mme Ayed H Maitre assistante à l'université de Guelma pour avoir acceptée de nous encadrer et pour la confiance, le suivie, l'aide, le soutien et les conseils qu'elle nous a accordé toute au long de notre projet de fin d'étude.

AMme Merabet R, Pour avoir co-encadré et diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, son aide et ses conseils pertinents afin de réaliser ce travail.

On tient à remercier également Mme Himer Ratiba technicienne du laboratoire de biochimie, Université de Guelma pour nous avoir soutenus durant notre période de travail sein de ce laboratoire, des sans oublier Ghania, Wafa et Hayet qui nous ont facilité la tâche.

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

Dédicaces

Merci ALLAH...

Je dédie ce travail

Aux êtres les plus chers : Mes parents

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

J'espère que ce travail sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHÈRES PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.

A mon cher mari,

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

En témoignage de tout mon amour

A mon cher frère : Ammar.

A mes belles sœurs : Zahra, Fatima, Malek,

A mes meilleures amis : Chaima, Youssra, Aya, Nedjla.

A toute ma famille (Rehamnia et Aouane).



Dédicaces



*Avant tout chose nous remercions **Allah** le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser a travail.*

Je dédie ce travail:

A la prunelle de mes yeux à celle qui a mis le paradis sous ses pieds à la femme qui a souffert sans me laisser souffert qui n'a jamais dit non à mes demandes qui a toujours rêvé de me voir terminer mes études ,ma chère mère Nadia qui dieu vous bénisse.

A mon cher frère hamza.

***A mon fiancé** et mon futur mari Ayoub pour tout l'encouragement l'amour et la compréhension que vous m'avez donnés j'ai fait ce travail qui n'aurait pas pu être fait avec votre soutien et vos conseils*

***A mes amies:** Chaima, Souad, Sabrina.*

***A mon meilleur ami** Aya pour les bons moments que nous avons passé ensemble a l'université.*

A tout ma famille Kebbaci pour leur soutien tout au Lang de mon parcours universitaire.

Nedjla

Dédicaces

À notre Dieu tout puissant, qui nous a accordé souffle et intelligence pour accomplir ce travail.

À ma chère mère

L'exemple de la force et mon grand secours qui n'a jamais cessé de m'encourager et de me soutenir en permanence durant toutes les années de mes études. Sans toi, je n'ai pas pu être ce que je suis et je ne saurais pu progresser et achever ce travail.

Puisse Dieu, le tout puissant te préserve et t'accorde une longue heureuse vie.

À mon cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai Toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, ma Formation et mon bien être.

Mes chers frères : Amar, Akrem, Oukba. Pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

À ma belle-sœur : Rachia qui m'a toujours soutenue.

À ma grande famille, mes amis et collègues Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur

À mon fiancé pour son soutien, son assistance morale et ses conseils.

Aya

Dédicaces

Avant toute chose je tiens à remercier Dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

je dédie ce travail aux personnes les plus chères aux mon cœur

A mon cher père

Qui est toujours ma force, mon soutien dans la vie. Mon école de patience, d'espoir, d'amour, de volante et de Persévérance. Ma référence et la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de son confiance et encouragement.

A ma chère mère

Mon paradis dans la vie. Ma source de la bienveillance et l'amour. Mon baume qui guérit toutes mes blessures. La femme qui est toujours avec moi et comprend tout sans qu'on lui parle. Tout l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer ce qu'ils font pour moi ;

J'implore Dieu, que les accorde une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur et les protège.

A mes chères sœurs

Soumia, Chaima, Je n'oublierai pas votre aide et vos prières pour nous tout au long de nos années, que Dieu vous protège.

A mes chers frères

Rabah, Abdslam, Safwan qui a toujours été présents pour moi. Merci pour votre encouragement et confiance.

Ainsi qu'à tous mes chers amis

Fathi, Akram, Salim, Amar, Abd Nour, Oussama. Et tous les gens que je connais. Parfois les mots sont insuffisants pour exprimer tous les sentiments.

Merci à vous.



Liste des abréviations

Abréviation	Signification
BHA	Butylhydroxyanisole
BHT	Butylhydroxytoluène
DPPH	Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl
EC50	La Concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH50 %
EOR	Espèces réactives d'oxygène
FeCl₃	Perchlorure de Fer
H₂SO₄	Acide Sulfurique
IC50	Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH
O^{•2}	Radical Superoxyde
OH[•]	Radical Hydroxyl
PG	Gallate propylée
PM	Plantes médicinales
R	Rendement en gramme
Rf	Retardation factor
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 Polyphenols Totaux
UV-VIS	Ultras-Violet-Visible

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification taxonomique de genre <i>origanum</i>	12
02	Liste d'espèces du genre <i>Origanum</i>	13
03	Liste des espèces hybrides reconnues du genre <i>Origanum</i>	16
04	Classification taxonomique d' <i>Origanum majorana</i>	18
05	Usage médical traditionnel d' <i>Origanum majorana</i>	21
06	Description de quelques tests antioxydants	28
07	Criblage phytochimique d' <i>O.majorana</i>	44
08	Résultat du dosage des polyphénols totaux des extraits	45

Liste des figures

N°	Titre	page
01	Squelette de base d'acide rosmarinique, principe actif majeur des plantes de la famille de Lamiacées	7
02	Squelette de base des flavonoïdes	8
03	Structure de base des alcaloïdes	8
04	présentation d' <i>Origanum majorana. L</i>	18
05	Distribution du genre <i>Origanum</i> dans le monde	19
06	Formes actives de l'oxygène dans la cellule	22
07	Systèmes de défense naturels contre les radicaux libres	24
08	Structure chimique du radical libre DPPH	30
09	Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (RH).	31
10	Protocole de préparation de l'extrait aqueux	36
11	Protocole de préparation de l'extrait hydrométhanolique	37
12	Plaque CCM dans une cuve à chromatographie	40
13	forme réduite DPPH et la forme radical du DPPH	41
14	Présentation graphique des rendements après lyophilisation pour les deux extraits. (Aq : aqueux ; Mét : hydrométhanolique)	43
15	Courbe d'étalonnage des phénols totaux	45
16	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes	46
17	Chromatographie sur couche mince de l'extrait hydrométhanolique et l'extrait aqueux	47
18	Evaluation de pourcentage d'inhibition d'oxydation par le radical DPPH en Fonction de la concentration des l'extraits de la marjolaine	48

*Introduction
générale*

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme remèdes pour le traitement de diverses maladies parce qu'elles contiennent des composants riches en usage thérapeutiques. Les métabolites secondaires (Khalidi et al., 2012), Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne.

Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (Chaabi, 2008).

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes.

Le genre *Origanum* regroupe environ 45-50 espèces de plantes herbacées ou de sous-arbrisseaux vivaces et aromatiques de la famille des Lamiacées originaires surtout du bassin méditerranéen. Les deux espèces les plus connues sont l'origan (*Origanum vulgare*) et la marjolaine (*Origanum majorana*).

Le choix d'étudier d'*Origanum majorana* a été guidé d'une part par les indications d'usage traditionnel, d'autre part par le peu de recherches répertoriées. C'est pourquoi nous sommes intéressés à étudier *Origanum majorana*. Connue communément sous le nom de marjolaine..

Dans l'intérêt de ce travail qui consisté à comprendre deux méthodes d'extraction les plus utilisés au laboratoire afin de conclure vis-à-vis à celle qui aura une meilleure valorisation des activités biologique de la 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 biologique.

La partie expérimentale est axée sur :

- Un screening phytochimique de la plante *Origanum majorana*,

- Extraction de l'extrait aqueux et hydrométhanolique,
- Dosage des polyphénols totaux,
- Dosage des flavonoïdes,
- Chromatographie sur couche mince,

Et enfin une étude biologique *in vitro* visant à évaluer le pouvoir antioxydant extrait aqueux et hydrométhanolique par le test du piégeage du radical libre DPPH,

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

*Synthèse
bibliographique*

Chapitre 01

La phytothérapie et les plantes médicinales

1. Phytothérapie

1.1. Définition

Le mot phytothérapie se compose étymologiquement de deux racines grecques : "photon" et "thérapie" qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Mansour, 2015**).

D'après l'**O.M.S (2000)**, la phytothérapie est la somme des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques, mentales ou le déséquilibre social. Elle est reliée à une expérience pratique et à des observations faites de génération en génération, et transmises de façon orale ou écrite.

On peut la distinguer trois types de pratiques :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement.
- Une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques, qui recherchent des principes actifs extraits des plantes.
- Une pratique de prophylaxie, déjà utilisée dans l'antiquité. L'Homme est déjà phytothérapeute sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage d'ail, du thym, du gingembre ou simplement du thé vert ; une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (**Boumediou et Addoun, 2017**).

1.2. Différents types de la phytothérapie

D'après **Strang (2006)**, la phytothérapie comporte différentes types :

1. 2.1.Aromathérapie

Une thérapie qui utilise les substances aromatiques (essences) secrétées par de nombreuses de plantes. Ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

1.2.2. Gemmothérapie

Elle se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et radicules.

1.2.3. Herboristerie

C'est la thérapie la plus classique et ancienne. L'herboristerie se sert de plante fraîche ou séchée. Elle utilise la plante entière ou une partie de celle-ci, écorce, fruits, fleurs. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche.

1.2.4. Homéopathie

Elle a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive. Les trois quarts de principe actif sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

1.2.5. Phytothérapie pharmaceutique

Elle utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, gouttes, gélules et lyophilisats.

1.3. Avantages et efficacité de la phytothérapie

- De nombreuses études scientifiques relatent les effets bénéfiques des plantes, parfois même supérieurs aux médicaments, et ce dans les plus grandes revues médicales.
- La phytothérapie couvre un très large champ de maladies et l'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principes actifs végétaux pour traiter toutes sortes de maladies. Par exemple le taxol (molécule utilisée pour le traitement du cancer) ;
- Les plantes médicinales sont beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse;
- La phytothérapie peut être utilisée comme un moyen de prévention ;
- La phytothérapie est accessible pour tout le monde et ne nécessite pas d'obtenir une ordonnance;
- Le corps humain est mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique ;
- La production des plantes est très peu polluante contrairement aux médicaments chimiques (**Oullai et Chamek, 2018**).

1.4. Inconvénients et limites d'utilisations de la phytothérapie

- Cure utilisant phytothérapie et compléments prendrait un certain temps. Vous devez posséder une immense patience.
- La phytothérapie contient divers ingrédients et vous devez être sûr que votre corps est d'accord avec les ingrédients et il n'est pas allergique.
- Un point à noter ici est, la phytothérapie et la médecine pour certaines affections peuvent avoir des effets secondaires négatifs. Ces effets secondaires ne peut être révélé immédiatement, mais cela prendrait des mois voire des années. Dans les premières étapes, si la phytothérapie n'est pas d'accord avec vous, il est sage de cesser de l'utiliser.
- Rappelez-vous, le gouvernement ne réglemente pas l'industrie des herbes médicinales. Par conséquent, il n'ya pas d'assurance qualité pour les produits à base d'herbes.
- Il ya très peu de bons praticiens de la médecine de fines herbes, et il serait sage de vous assurer que vous consultez un bon praticien avant de commencer sur la phytothérapie **(Ben Moussa, 2007)**.

Le manque de preuves scientifiques n'est pas en faveur de l'efficacité de phytothérapie, la plupart des déclarations concernant les effets thérapeutiques sont faits par des praticiens eux-mêmes. Beaucoup d'entre eux n'ont pas été vérifiés scientifiquement. Le diagnostic souvent imprécis, le moyen de diagnostic connu est l'odorat, apparition des symptômes, testes d'efficacité non connus, interrogation des esprits et ancêtres chez certaines religions. Ainsi que, le dosage des produits est arbitraire et imprécis. De même les méthodes de préparation sont non hygiéniques **(Sofowora, 2010)**.

Heureusement aujourd'hui, les phytothérapeutes connaissent le degré d'efficacité des plantes médicinales et leurs limites dans le traitement de certaines pathologies. Ils ne se risqueraient jamais à juguler une maladie infectieuse aiguë sans l'aide d'antibiotiques ni à soigner une affection séreuse, comme le diabète, uniquement avec des plantes. Toutefois, ils peuvent traiter et soulager efficacement leurs patients atteints de maladies bénignes avec un traitement à base de plantes comme par exemple les affections gastro-intestinales, les problèmes dermatologiques ou d'affections légères du système nerveux (stress et insomnie) **(Oullai et Chamek, 2018)**.

2. plantes médicinales

2.1. Définition

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur (**Dutertre, 2011**).

2.2. Historique

Les plantes médicinales sont utilisées par l'Homme depuis près de 7 000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique (**Hordé, 2014**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important (**Elqaj et al., 2007**).

2.3. Efficacité des plantes entières

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants (**Iserin et al., 2001**).

2.4. Mode de préparation des plantes pour la phytothérapie

Y a plusieurs modes de préparation des plantes en phytothérapie, et cela selon l'usage que l'on veut en faire. Les modes de préparation les plus courants sont :

- **L'infusion** : Elle la plus simple et la plus rapide. Soit on dépose la plante dans de l'eau au point d'ébullition, soit on verse de l'eau bouillante sur la plante. Le mélange est ensuite couvert et laissé pendant un temps qui varie en fonction de la plante utilisée, de quelques minutes à près d'une heure (**Jesus, 2019**).

- **La décoction** : Elle se fait en mélangeant le macérât et le solvant à température ambiante. On fait bouillir le mélange à feu doux. D'une part, on ne peut préparer de décoction lorsque la

chaleur détruit les ingrédients actifs, d'autre part, la chaleur peut accentuer leurs effets (**Sean et Timothy, 2005**).

- **La macération** : Consiste à maintenir en contact la drogue avec un solvant à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 48 heures. Cette méthode permet une extraction douce des principes actifs, surtout lorsqu'ils sont thermolabiles (**Chabrier, 2010**).
- **Les extraits** : Communément, cela désigne la plante avec tous ses principes actifs, c'est-à-dire la plante entière de laquelle sont retirées les parties fibreuses et l'eau. Il existe plusieurs sortes d'extraits « L'extrait sec, L'extrait liquide, Les extraits standardisés, Les lyophilisats » (**Gayet et Pierre, 2013**).
- **La poudre** : Elle s'obtient en pulvérisant une plante, soit au moulin à café, soit au mortier et au pilon. Elle peut être aisée en passant la plante au four à feu très doux pendant quelques instants (**Morigane, 2007**).

2.5. Éléments actifs des plantes

Parmi les originalités majeures des végétaux leurs capacités de synthétiser des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, glucides, protides, lipides, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires. Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants biochimiques naturellement présents dans une plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique. Les principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale et ils n'ont pas les mêmes propriétés (Fig. 1). Exemple type, l'oranger ; ses fleurs sont sédatives, mais son écorce est apéritive (**Sebai et Boudali, 2012**).

Plus de 200.000 structures de métabolites secondaires ont été identifiées (**Amlan et Patra, 2010**). Ces structures jouent un rôle important dans l'odorat et protection de plante contre les ravageurs et radiations ultra-violettes solaires (**Kamra et al., 2006**). Ils ont aussi un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, telle que l'attraction des insectes pollinisateurs (**Greathead, 2003**), communication intercellulaire, défense et régulation des cycles catalytiques (**Bélanger, 2008**).

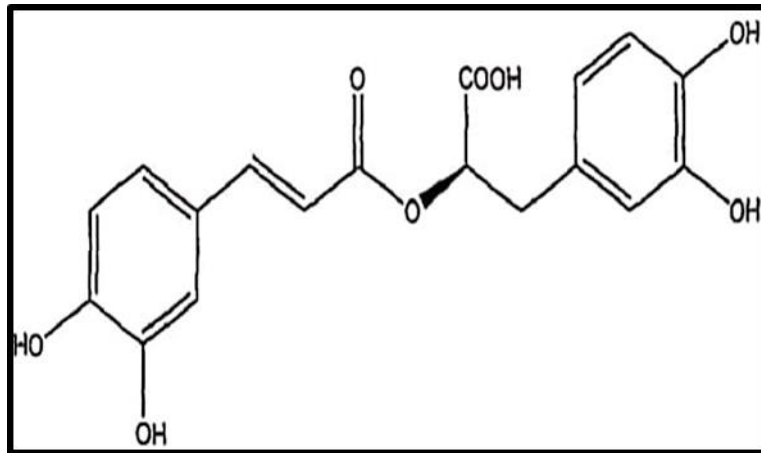


Figure 01 : Squelette de base d'acide rosmarinique, principe actif majeur des plantes de la famille de Lamiacées (Penchev, 2010).

2.6. Principaux groupes

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, terpènes et alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Mansour, 2009).

2.6.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ils sont présents dans tous les fruits et légumes (Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011). Plus de 8000 structures ont été identifiées à partir de simples molécules comme les acides phénoliques, jusqu'aux les substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper, 2010). Ces molécules constituent la base des principes actifs trouvés au niveau des plantes médicinales. Ils possèdent un effet antioxydant, antibactérien et antifongique et ils sont des protecteurs contre l'apparition de certains cancers (Macheix et al., 2005). En effet, une alimentation équilibrée fournit à l'homme environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E (Scalbert et al., 2005). Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes ; les non flavonoïdes dont les principaux composés sont les acides phénoliques, stilbènes, lignanes, lignines et coumarines (Hoffmann, 2003), et les flavonoïdes dont on caractérise principalement les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols (Pincemail et al., 2007).

a- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques très connus dans ce genre et jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants (Benaïssa, 2011).

Cette classe contient plusieurs composés chimiques, parmi lesquels : les acides phénoliques, les Stilbènes hydroxylés, les coumarines, les lignanes, les lignines et les Xanthones (Ghnimi, 2015).

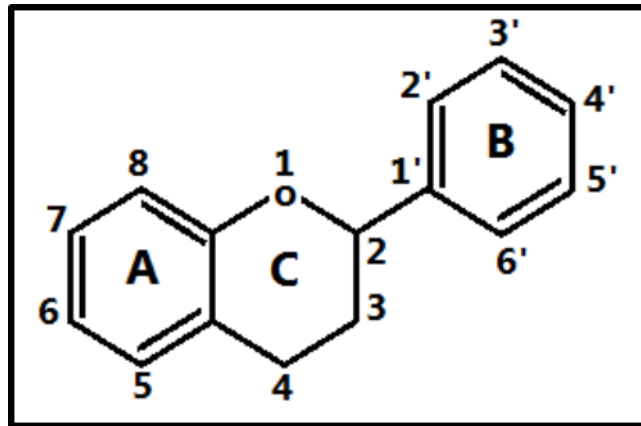


Figure 02 : Squelette de base des flavonoïdes (Heim *et al.*, 2002).

2.6.2. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl et Anton, 2009).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine). Des anticancéreuses (Iserinet *et al.*, 2001).

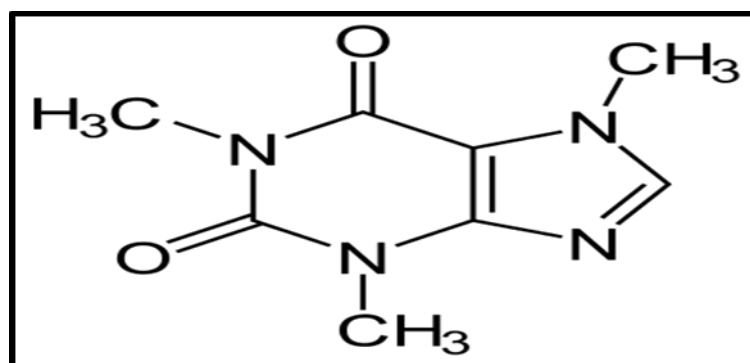


Figure03 : Structure de base des alcaloïdes (Iserinet *et al.*, 2001).

2.6.3. Composés terpéniques

Les terpènes (Terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, ils constituent entre autre le principe odoriférant des végétaux (**Klaas et al., 2002**). Ces molécules se présentent en forme des huiles essentielles, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (**Hopkins, 2003**).

2.7. Utilisation

Depuis plusieurs années, l'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Aujourd'hui, plus de la moitié de la population mondiale pratique la phytothérapie (**Sheng-Ji, 2001**). Les plantes médicinales servent pour la production de produits pharmaceutiques, onguents, crèmes et autres produits naturels. Dans les pays en voie de développement, environ 90 espèces servent à la production des médicaments industriels à partir de mélanges d'herbes issues de collectes sauvages (**Farnsworth et Soejarto, 1991**). 30% environ des médicaments prescrits par le médecin sont d'origine naturelle, alors que cette proportion est de 50% pour les médicaments en vente libre (**Sofowora, 2010**). Parmi les médicaments obtenus à partir de plantes, on trouve le taxol, isolé de l'if (*Taxus baccata*) qui a sa place dans le traitement des cancers gynécologiques (**Suffness, 1995**). L'artémisinine, substance isolée d'une armoise chinoise (*Artemisia annua*) est utilisée dans le traitement des formes résistantes contre la malaria (**Mouchet et al., 2004**). Le ginkgo (*Ginkgo biloba*) est utilisé sous forme d'extrait lors de troubles de la circulation cérébrale (**Gentiana, 2001**).

2.8. Plantes médicinales en Algérie

En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été faits au IX^{ème} siècle par Ishâ-Ben-Amran et Abdallah-Ben-Lounès, mais la plus grande production de livres a été réalisée au XVII^{ème} et au XVIII^{ème} siècle (**Benhouhou, 2015**). Même pendant le colonialisme français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales. En 1942, Fourment et Roques ont publiés un livre de 200 espèces végétales d'intérêt médicinales et aromatique, la plupart d'entre elles sont du Nord d'Algérie et seulement 6 espèces sont localisées au Sahara (**Benhouhou, 2015**).

En effet, l'Algérie constitue aujourd'hui un importateur net de plantes aromatiques et médicinales, elle importe presque la totalité de ses besoins en plantes aromatiques, médicinales et huiles essentielles. Aussi, la matière brute de ces plantes est vendue à des prix dérisoires, par contre que le produit fini est importé à des prix exorbitants. C'est pour cela que l'Algérie devrait

rendre le marché des plantes médicinales une filière à part entière afin de tirer profit de son riche potentiel, à l'instar des autres pays du Maghreb (A.P.S, 2015).

Chapitre 02
Généralité sur la
Marjolaine

1. Description botanique de la famille Lamiacée

L'ordre des Lamiales est un ensemble important comprenant actuellement 17.800 espèces réparties en 21 familles ; l'une des principales est celle des Lamiacées, anciennement appelée Labiées (**Belmont, 2013**), est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres (**Djahra, 2014**). Elle est contient énormément importantes plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle et moderne et dans les industries alimentaires et pharmaceutiques, le Romarin, le Thym, l'Origan et la Sauge, ce sont les plantes plus populaires dans les remèdes traditionnels (**Nieto, 2017**).

Les feuilles de cette famille sont opposées décussées , simples , parfois composées (**Spichiger et al., 2004**) , leur tige est carrée , certaines espèces sont dressées , d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées (**Labiod, 2016**) , Les inflorescences formées par de faux verticilles axillaires ou glomérules proviennent de la réunion de 2 cymes bipares (**Caillaud, 2013**). Les fleurs voyantes des Lamiacées sont visitées par des abeilles, des guêpes, des papillons de jour et de nuit, des mouches, des scarabées et des oiseaux. La lèvre supérieure recourbée de la corolle protège généralement les étamines et le stigmate, alors que la lèvre inférieure fournit une piste d'atterrissage et est souvent remarquable (**Judd et al., 2002**), les fruits sont tétrakères (**Ayaidla, 2011**).

2. Genre *Origanum*

Le terme « Origan » est apparu dans la langue au XIII^e siècle (**Bouhadouda, 2016**). *Oregano* en Anglais , il dérive du latin *Origanum*, qui est lui-même issu du grec ancien *origanon* qui composé de deux mots : *oros* « montagne » et « *ganos* »: éclat, beauté, qui signifie "ornement des montagnes" Communément appelé « joie des montagnes » ou « parure de montagnes » en raison de leur beauté et leur abondance sur les montagnes méditerranéennes puisque cette plante préfère des altitudes élevées de 400-1800 m dans le climat méditerranéen et dans les endroits ensoleillés (**Vasudeva et Goel., 2015**).

Le genre *Origan* se compose de 43 espèces et 18 hybrides disposés en trois groupes et 10 sections (**Krishnakumar et Potty, 2012**). Ce genre comprend plusieurs espèces, des sous espèces, des variétés et des hybrides qui peuvent être individuellement distingués, mais il existe encore de grandes variations (**Amar et El Wahab, 2013**).

2.1. Nomenclature

L'*Origanum* vient de deux mots grecs, "oros" qui veut dire montagne et "ganos" qui signifie éclat ; ce mot signifierait "ornement des montagnes" (Bouhaddouda, 2016), le terme française apparait au XIII siècle, les «Oregano» européens (*Origanum* sp) et mexicains (*Lippia* sp), Le nom «Oregano» est communément utilisé à travers le monde pour définir un arôme et une saveur épicés (Simonnet et al., 2011).

2.2. Position systématique

Classification taxonomique d'après Deysson 1967 (Figueredo, 2007)

Tableau 01 : Classification taxonomique de genre *origanum*

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Série	Superovariées tétracycliques
Super ordre	Tubi florales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	<i>Origanum</i>

2.3. Présentation botanique du genre *Origanum*

L'*Origanum* est une plante herbacée vivace (Aiboud, 2012), leur tiges sont plus basses, généralement ligneuse, on trouve plusieurs tiges dressées, de section quadrangulaire ouramifié, ces tiges peut persister l'hiver à l'état sec (Caillaud, 2013).

Ils portent des branches latérales sur le quart ou la moitié supérieure, de longueur très variable de 10 à 60 cm, la plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces, les poils sont simples (Paulus, 1997).

Les feuilles sont simples, opposées, ovales portent des poils glandulaires ou non sur leur surface (El Bbrahimi, 2014), elles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées, ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles(Chickoune, 2007).

Les inflorescences sont portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches, les bractées sont arrondies, ovales ou lancéolées, les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent pourpres ou de couleur jaune-vert (Figueredo, 2007).

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

- **Le 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.

- **Le 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".

- **Le groupe C**, possédant un calice avec cinq dents subégales.

Tableau 02 : Liste d'espèces du genre *Origanum* (Kintzios, 2002).

Groupe	Section	Espèces / Sous-espèces / Variétés
	<i>Amaracus Bentham</i>	<i>O. boissieri Ietswaart</i> <i>O. calcaratum Jussieu</i> <i>O. cordifolium Vogel</i> <i>O. dictamnus L.</i> <i>O. saccatum Davis</i> <i>O. solymicum Davis</i> <i>O. symes Carlström</i>
		<i>O. akhdarensense Ietswaart et Boulos</i>

A	<i>Anatolicon</i> Bentham	<i>O. cyrenaicum</i> Beguinot et Vaccari <i>O. hypercifolium</i> Schwarz et Davis <i>O. libanoticum</i> Boissier <i>O. pampaninii</i> Ietswaart <i>O. scabrum</i> Boissier et Heldreich <i>O. sipyleum</i> L. <i>O. vetteri</i> Briquet et Barbey
	<i>Brevifilamentum</i> Ietswaart	<i>O. acutidens</i> Ietswaart <i>O. bargyli</i> Mouterde <i>O. brevidens</i> Dinsmore <i>O. haussknechtii</i> Boissier <i>O. husnucan-baserii</i> Duman, Aytac et Duran <i>O. leptocladum</i> Boissier <i>O. rotundifolium</i> Boissier
	<i>Longitubus</i> Ietswaart	<i>O. amanum</i> Post
B	<i>Chilocalyx</i> Ietswaart	<i>O. bilgeri</i> Davis <i>O. micranthum</i> Vogel <i>O. microphyllum</i> Vogel <i>O. minutiflorum</i> Schwarz et Davis
		<i>O. majorana</i> L. <i>O. onites</i> L. <i>O. syriacum</i> L.

	<i>Majorana Bentham</i>	<i>O. syriacum L. var. syriacum</i> <i>O. syriacum L. var. bevanii Ietswaart</i> <i>O. syriacum L. var. sinaicum Ietswaart</i>
C	<i>Campanulaticalyx Ietswaart</i>	<i>O. dayi Post</i> <i>O. isthmicum Danin</i> <i>O. jordanicum Danin and Künne</i> <i>O. petraeum Danin</i> <i>O. punonense Danin</i> <i>O. ramonense Danin</i>
	<i>Elongataspica Ietswaart</i>	<i>O. elongatum Emberger ex Maire</i> <i>O. floribundum Munby</i> <i>O. grosii Pau et Font Quer ex Ietswaart</i>
	<i>Origanum</i>	<i>O. vulgare L.</i> <i>O. vulgare L. ssp. vulgare</i> <i>O. vulgare L. ssp. glandulosum Ietswaart</i> <i>O. vulgare L. ssp. gracile Ietswaart</i> <i>O. vulgare L. ssp. hirtum Ietswaart</i> <i>O. vulgare L. ssp. virens Ietswaart</i> <i>O. vulgare L. ssp. viride Hayek</i>
	<i>Prolaticorolla Ietswaart</i>	<i>O. compactum Bentham</i> <i>O. ehrenbergii Boissier</i> <i>O. laevigatum Boissier</i>

Tableau 03 : Liste des espèces hybrides reconnues du genre *Origanum* (Kintzios, 2002).

Espèces hybrides	<i>O. x adonidis</i>
	<i>O. x applii</i>
	<i>O. x barbarae</i>
	<i>O. x dolichosiphon</i>
	<i>O. x hybridinum</i>
	<i>O. x intercedens</i>
	<i>O. x intermedium</i>
	<i>O. x liriium</i>
	<i>O. x majoricum</i>
	<i>O. x minoanum</i>
	<i>O. x pabotii</i>
	<i>O. x symeonis</i>
	<i>O. amanum x dictamnus</i>
	<i>O. calcaratum x dictamnus</i>
	<i>O. micranthum x vulgare ssp. Hirtum</i>
<i>O. sipyleum x vulgare ssp. Hirtum</i>	

3. Marjolaine

3.1. Historique

Le terme organ provient du latin *Origanum*, lui-même issu de grec origanon. Le terme français apparaît au XIII^{ème} siècle. En le décomposant étymologiquement, on trouve oros, la montagne et ganos, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». En

effet, l'origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté. **(Bouhaddouda, 2016).**

Marjoram a une longue histoire derrière que les Romains et les Grecs l'ont utilisé pour couronner leur couple nuptial avec des couronnes sur Marjoram afin de symboliser le bonheur, l'honneur et l'amour **(Muqaddas, 2016)**. Dans l'ancienne Egypte, la marjolaine était utilisée pour désinfecter et préserver la nourriture et son huile était transmise sur le front et dans les cheveux. Traditionnellement, les feuilles de marjolaine sont utilisées pour guérir le diabète, l'insomnie, le catarrhe, l'asthme et la nervosité **(Tripathy et al., 2017)**.

3.2. Définition

La Marjolaine (*Origanum majorana*) est une plante annuelle de la famille des Lamiacées, 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 ou Origan des jardins **(Dubois et al., 2006)**. Autres noms communs : marjolaine officinale, marjolaine à coquilles, la marjolaine vraie, Marjolaine française, Sweet Marjoram. Dans l'Afrique du Nord les Arabes la nomment Khrezama (Tunisie), Meurdekouch (Maroc), Mardguscia (Tripojiiaine), et parfois Mazerouch ou Marikoum, noms qui s'appliquent aussi à d'autres espèces d'*Origanum* **(Dubois et al., 2006)**.

3.3. Description botanique

Origanum majorana L aussi connue sous le nom de Marjolaine ou Origan des jardins, est une herbacée qui appartient à la famille des Lamiacées ne dépassant pas 80 cm de haut), qui a des feuilles de 1 à 2 cm de long, opposées, vert grisâtre, ovales entières; ses fleurs sont petites, blanches ou violettes, disposées en groupes axiaux serrés avec deux bractées en forme de cuillère **(Lakhrissi, 2015)**.

Les fleurs de cette plante sont hermaphrodites dans la nature ayant les deux sexes sur la même plante. Les graines sont minuscules, ovales, foncées et brunes qui mûrissent d'août à septembre. L'*Origanum majorana* a des racines pivotantes. Elles ont un diamètre de 0,2 mm à 0,6 mm. Les racines de la plante sont de forme sub-cylindrique et plissées longitudinalement avec des fissures transversales. Elle a une odeur aromatique et un goût non persistant. Les fractures sont longues, irrégulières et fibreuses **(Muqaddas, 2016)**.



Figure 04 : présentation d'*Origanum Majorana. L* (Schaal ,2010).

3.4. Taxonomie

Origanum Majorana répertoriée comme suit :

Tableau 04 :Classification taxonomique d'*Origanum majorana*

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Majorana</i>

- **Noms vernaculaires**

Nom français : la marjolaine

Nom arabe : Merdgouche, Merdgoucha, Berdgouche « مردقوشة, مردقوش, یردقوش »

Nom scientifiques : *Origanum Majorana L*

3.5. Répartition géographique

3.5.1. Dans le monde

Le genre *Origanum* est largement répandu dans les régions euro-sibériennes et iranosiabérienne (Bekhechi, 2008). Elles sont principalement distribués sur le pourtour du bassin méditerranéen, dont près de 80 % exclusivement présents dans l'Est méditerranéen (Simonnet, 2011). La plupart sont originaires ou limitées à l'est partie de la zone méditerranéenne, Europe, Asie et Nord Afrique (Hussain et al., 2010). Est principalement réparti en Turquie, en Grèce et au Moyen Orient (El brahimi, 2014).



Figure 05 : La Distribution du genre *Origanum* dans le monde (Zenasi, 2014)

3.5.2. En Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales au regard de sa superficie et de sa diversité bioclimatique. L'*Origanum* de la famille des Lamiacées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Saidj, 2007). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement. Elle est représentée par trois espèces spontanées phylogénétiquement:

- *Origanum majorana* et *Origanum vulgare ssp glandulosum Desf* en démique Algérotunisienne
- *Origanum floribundum* en démique Algérienne.

3.6. Composition chimique d'*Origanum majorana*

Les études menées par **shan (2005)** sur les extraits de la partie aérienne de l'espèce *Origanum majorana* ont montré la présence des acides phénoliques : acide caféique, acide galique, acide cinnamique, acide carsonique, acide rosmarinique..., des flavonoïdes : l'apigénine, la lutéoline, la quercétine, la catéchine et leurs glycosides telles que la rutine et l'isovetexine.

D'autre part, la lutéoline-7- Diglucoside, l'apigénine-7-glucoside, la diosmétine-7-glucuronide, le 6-hydroxyapigénine, l'arbutine et le méthylarbutine sont présents en tant que flavonoïdes glycosides dans la marjolaine.

Par ailleurs, l'étude chimique de l'espèce *Origanum majorana* effectuée par **Dorman (2003)** a révélé la présence des triterpénoïdes tels que : le B-sitostérol, l'acide oléonalique, et l'acide ursolique.

3.7. Utilisation et posologie de la marjolaine

La quantité de feuilles séchées de marjolaine à prendre pour préparer une infusion ne doit pas dépasser 30 pincées pour 1 L d'eau chaude. Le patient en boira 2 tasses le matin au réveil ou à midi, après le repas.

La posologie à respecter pour la teinture mère est de 20 gouttes pour un grand verre d'eau, à raison de trois fois par jour (**Jesus, 2017**).

3.8. Propriétés médicinales de la marjolaine

O. majorana est une plante très populaire utilisée dans notre région. Elle possède des applications très vastes tant dans le domaine alimentaire que celui de la médecine. Traditionnellement, les feuilles sont utilisées par voie orale (en tisane ou mastication) dans le traitement symptomatique de diverses pathologies telles que les troubles digestifs et les troubles respiratoires. En effet, les feuilles de cette plante possèdent un effet antalgique par son action sur les récepteurs acide gamma-aminobutyrique (**Aiche – iratni, 2016**).

Tableau 05 : Usage médical traditionnel de *Origanum majorana* (Sharifi-Radet *al.*, 2020)

Espèce d'origan	Pays	Indications pour l'utilisation
<i>Origanum majorana</i>	Algérie	Troubles digestifs
	Chypre	Troubles digestifs et respiratoires, problèmes de reproduction
	Maroc	Troubles digestifs
	Turque	Troubles digestifs et nerveux, rhume
	Cuba	Troubles digestifs, respiratoires et nerveux, diabète, insomnia

Chapitre 03

Activités

biologiques

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).

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 :

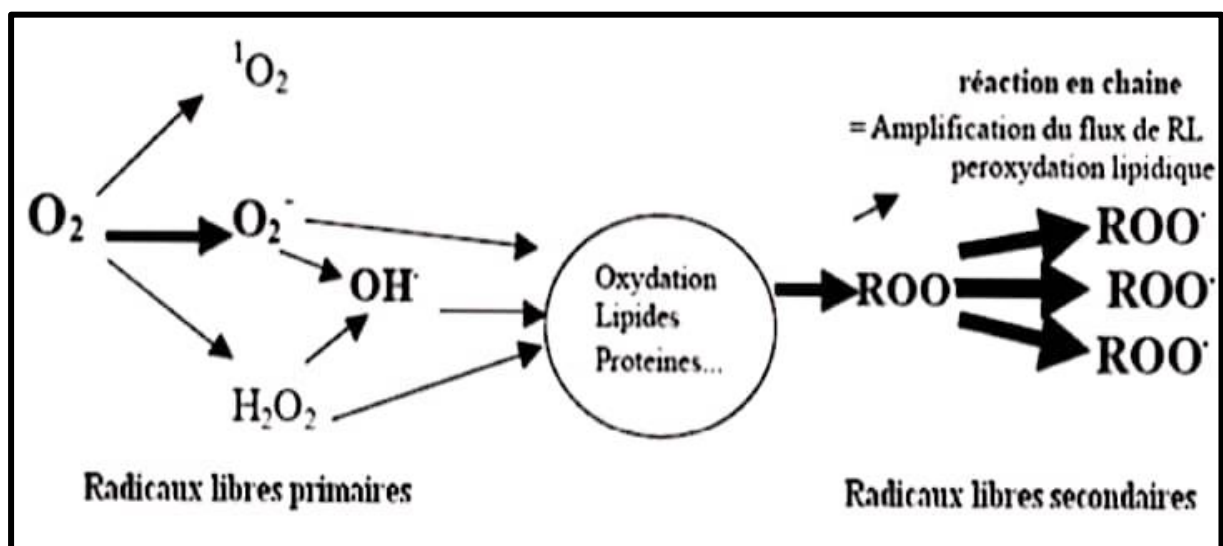


Figure 06: Formes actives de l'oxygène dans la cellule (Binov, 2001)

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 ($O_2^{\cdot-}$), radical hydroxyl (OH^{\cdot}), monoxyde d'azote (NO^{\cdot}) mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs nonradicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxydinitrite ($ONOO^-$) (**Favier, 2003**).

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^{\cdot})- et peroxy (ROO^{\cdot})- 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 $O_2^{\cdot-}$ 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**).

1.2. Rôle des radicaux libres chez les plantes

Les ERO sont continuellement produites chez les plantes selon le métabolisme aérobie. En fonction de leur nature, certaines, très toxiques, sont rapidement détoxifiées par divers mécanismes enzymatiques et non-enzymatiques.

Alors que les végétaux génèrent pléthore de processus pour combattre la croissance des ERO produites dans les conditions de stress abiotique (chocs thermiques, irradiation excessive, couche d'ozone, sécheresse, salinité...), dans d'autres circonstances, ils peuvent tout aussi engendrer délibérément des ERO au titre de molécules signal afin de contrôler de nombreux phénomènes comme la défense contre des pathogènes (stress biotique), la mort cellulaire programmée (apoptose) et le comportement stomatique (**Bouchouka, 2016**).

2. 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 antioxydantes. Mais en conditions d'oxydation, les pro-oxydants emportent sur les antioxydants, qui peuvent conduire à de nombreuses maladies inflammatoires (Bayala, 2014).

3. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou inhiber la génération d'un oxydant toxique, d'arrêter ceux qui sont déjà produits et de les inactiver, bloquer de ce fait la réaction en chaînes de propagation produite par ces oxydants (Tang and Halliwell, 2010).

3.1. Rôle des antioxydants

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

- Inhibition de la formation des radicaux libres.
- Neutralisation des radicaux libres.
- Amélioration du système de défense du corps.
- Réparation des dommages résultants de radicaux libres en agissant spécifiquement par chélation des métaux de transition ou agir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer (Lamina et al., 2013, Liochev, 2013, Valko et al., 2006).

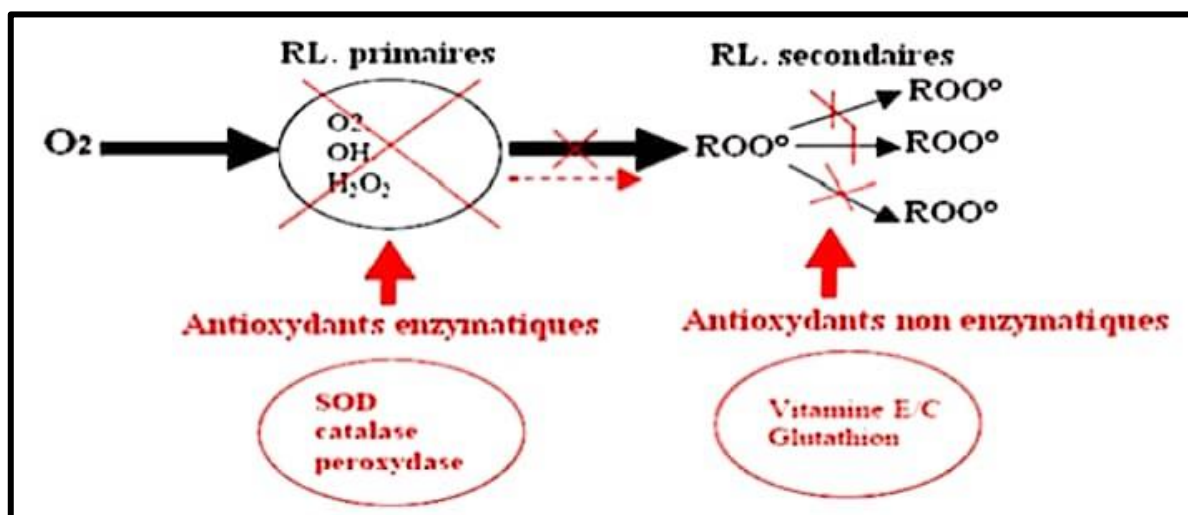


Figure 07 : Systèmes de défense naturels contre les radicaux libres (Binov, 2001)

3.2. Types d'antioxydants

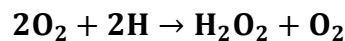
Pour contrôler la production permanente des espèces réactives, les organismes vivants possèdent des systèmes de défense qui les protègent contre les dommages de ces radicaux. Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants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

3.2.1. Antioxydants naturels

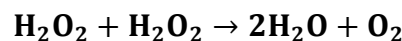
3.2.1.1. Antioxydants enzymatiques

Ce système comprend plusieurs éléments dont les plus connus sont : le superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathions peroxydase (GPx).

a. Le superoxyde dismutase (SOD) : elle catalyse la dismutation de l'action superoxyde en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en oxygène.

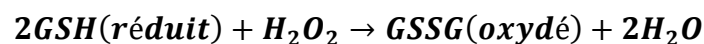


b. La catalase : cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes (**valko et al., 2006**). Elle permet de convertir deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 .



c. La glutathion peroxydase : une enzyme à cofacteur de sélénium se localise dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques (ROOH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Valko et al., 2006**).

GPX



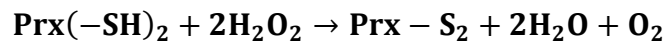
GPX



A côté de ces enzymes principales, il se trouve :

d. Les peroxyredoxines (Prxs) : ce sont des enzymes dimériques avec une masse moléculaire d'environ 23 kDa. Ils sont caractérisés par la présence de résidus de cystéine à leur centre

catalytique et agissent en tant qu'antioxydants spécifiques. Ces protéines sont également impliquées dans la dégradation enzymatique de H_2O_2 , d'hydroperoxyde et d'ONOO⁻.



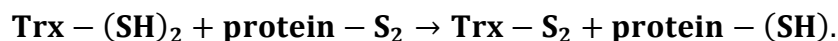
La thioredoxine peut régénérer la forme réduite du Prx.



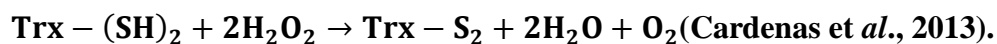
e. Les paraxonases : récemment, la famille paraoxonase (PON) a émergé comme une nouvelle classe d'enzymes antioxydantes, jouant un rôle important dans les maladies associées à l'obésité, notamment les maladies cardiovasculaires et le diabète. Elle se trouve en particulier, à la surface des lipoprotéines de haute densité (HDL), PON1 protège les lipoprotéines de basse densité (LDL) et des cellules circulantes contre les dommages oxydatifs, évitant ainsi les réactions inflammatoires dans les cellules de la paroi artérielle (Savini et al., 2013).

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

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



Trx peut également réagir directement avec H_2O_2



3.2.1.2. Les antioxydants non enzymatiques

Ce système comprend plusieurs molécules tels que le glutathion, l'acide urique et les protéines de stockage des métaux de transition (ferritine, transferrine, lactoferrine, céruloplasmine) (Savini et al., 2013). D'autres substances exogènes apportées par l'alimentation, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stable.

a. La vitamine E

C'est un terme qui désigne un ensemble de composés phénoliques appelés tocophérols) α , β , γ , δ (ou tocols). Ils diffèrent les uns des autres par la position des groupes méthyles sur le cycle aromatique. C'est l' α tocophérol qui est biologiquement le plus efficace. Plus de 50% de la vitamine E se trouvent dans les tissus adipeux, le caractère hydrophobe de cette vitamine lui permet de s'insérer au sein des membranes biologiques riches en acides gras polyinsaturés, où elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les espèces réactives (**Papas, 2008 ; Yang and Clements, 2013**).

b. La vitamine C

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

c. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH et peroxydes RO. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique. Les caroténoïdes peuvent aussi capter l'oxygène singulet, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets (**Gardés et al., 2003**). Le β -carotène (provitamine A), le composant le plus efficace dans la famille des caroténoïdes ; est une substance liposoluble susceptible d'être transformé en vitamine A dans le corps (**Sanders and Emery, 2003**).

d. Les polyphénols

Les polyphénols sont connus par leur activité antioxydante (**Zhu et al., 2012**) qui est due à la présence d'un nombre important de groupements hydroxyles phénoliques (**Hannan et al., 2012**). Les propriétés redox de ces composés leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et éliminateurs de l'oxygène singulet. Certains montrent des propriétés chélatrices de métaux (**Proestos et al. 2013**) et d'autres peuvent empêcher la production enzymatique des espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que l'inhibition de

cyclooxygénase, lipoxygénase et cytochrome P450 (Ferguson, 2001), de même, augmenter l'expression des enzymes qui ont une activité antioxydante telles que la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase et la catalase (Jayasena *et al.*, 2013).

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).

3.3. Méthode d'étude d'activité des antioxydants des plantes médicinales

L'activité antioxydant des plantes médicinales est évaluée soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres. Les principales méthodes d'évaluation de l'activité des plantes médicinales sont : ORAC (oxygène radical absorbance capacity), TEAC (Troloxequivalentantioxydantcapacity) ou ABTS (2,2-azinobis 3-ethyl-benzothiazoline 6-sulphonate) et DPPH⁺ (2,2- diphényl-1- picrylhydrazyl). Ces méthodes se différencient par les mécanismes de réduction des radicaux libres par les antioxydants: par transfert d'électron ou par transfert d'atome d'hydrogène. Les méthodes ABTS+, Decolorization Assay (ou TEAC) et DPPH sont basées sur le transfert l'électron, alors que la méthode ORAC sont basée sur le transfert d'un atome d'hydrogène (Iris *et al.*, 1999).

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester. (Popovici *et al.*, 2009).

Tableau 06 : Description de quelques tests antioxydants

Tests	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
Mécanisme	transfert	transfert	transfert	Transfert de

Réactionnel	d'électron majoritaire	d'électron et de proton	d'électron	proton
Nature des molécules testées	Hydrophiles et lipophiles	hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles	hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	EC50 et/ou en mg ou μmol équivalent Torolox	EC50 et/ou en mg ou μmol équivalent Torolox	en mg ou μmol équivalent Fe^{+3}	EC50 et/ou en mg ou μmol équivalent Torolox
Avantages	Très facile à mettre en œuvre. - Peu coûteux.	Très facile à mettre en œuvre. - Cinétique de réaction très rapide. - Peu coûteux.	Très facile à mettre en œuvre. - Peu coûteux	- Facile à mettre en œuvre. - coûteux (nécessite d'un fluorimètre) - Utilisation d'un générateur de radicaux ($\text{ROO}\cdot$)
Inconvénients	- Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires. - Interférences possibles à 515 nm. - forte dépendance au PH et au solvant. - Radical inexistant in vivo.	produit de dégradation antioxydants. - Radical inexistant in vivo.	PH utilisé non physiologique. - Interférences possibles à 595 nm - Interférences avec composés possédant $E^\circ < 0.77\text{v}$.	- Mécanisme de génération des $\text{ROO}\cdot$ non physiologique. - Interférence possible des protéines.
Références	(Bossokpi, 2002)	(Pelli et Lyly, 2003) (Pastre et	(Brand-Williams et al., 1995)	(Pinelo et al., 2004) (Awika et

		Priyenko, 2007)		Rooney, 2004)
--	--	--------------------	--	---------------

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'évaluation de cette activité par la méthode suivant :

3.3.1. Méthode du piégeage du radical libre DPPH•

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure 08). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur violé bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm (Perovskites and Related, 2004).

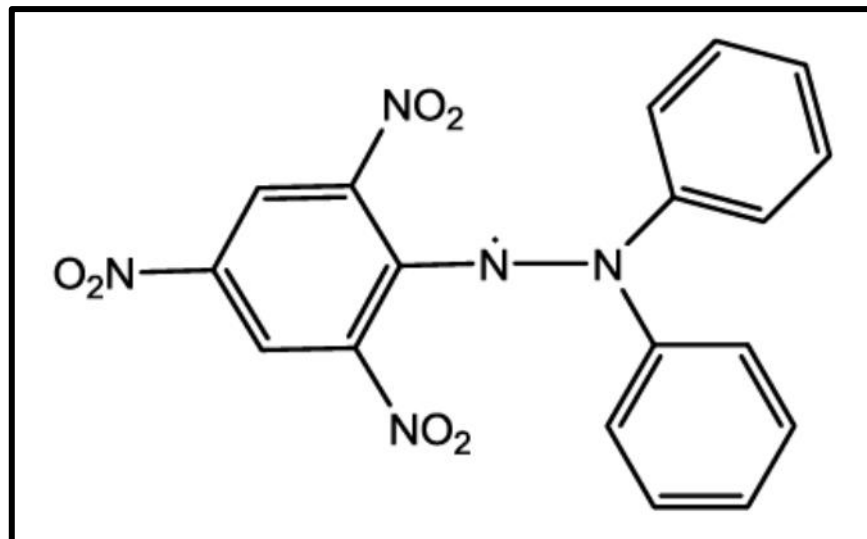


Figure 08: Structure chimique du radical libre DPPH

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants (Figure 09) est tributaire de deux type de mécanisme : (i) la libération de l'atome hydrogène de groupement hydroxyle ; (ii) la libération d'un électron (Nanjo *et al.*, 1996).

L'objectif de l'étude est de proposer une technique rapide et reproductible permettant de comparer les extraits vis-à-vis de leur action sur les phénomènes du piégeage des radicaux libres (Popovici et al., 2009).

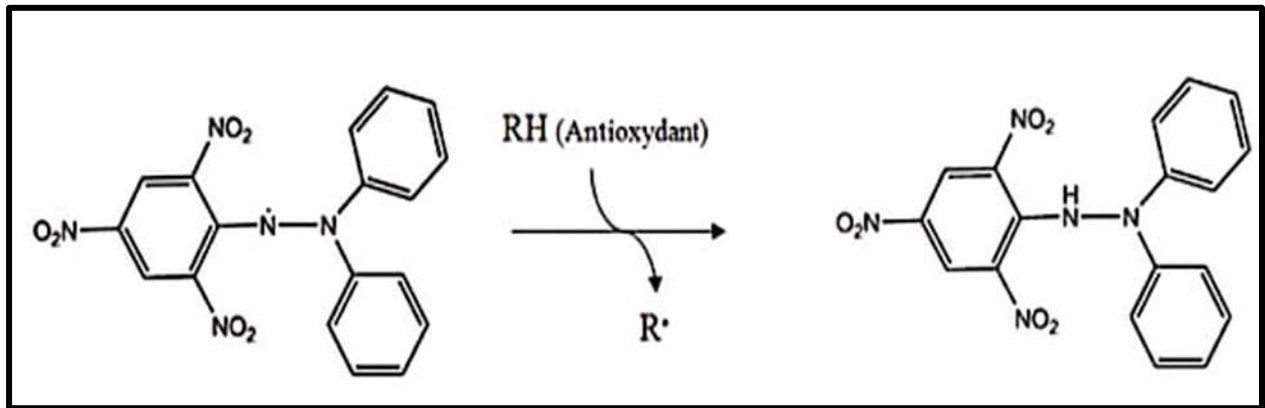


Figure 09 : Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (RH).

Partie expérimental

Chapitre 01
Matériel et
méthodes
d'analyses

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail, est les feuilles d'*Origanum majorana*. Cette dernière était achetée du marché de Guelma. Après l'achat, le matériel végétal est débarrassé des débris. Il est ensuite broyé et conservé dans des flacons.

2. Méthodes d'analyses

2.1. Détermination de la teneur en eau

2.1.1. Mode opératoire

La vase de tare a été séchée à l'étuve pendant 30 min à 100 °C avec couvercle incliné, puis refroidi, 2 g de l'échantillon a été placés dans l'étuve pendant 30 min à 100 °C puis refroidi au dessiccateur durant quelques minutes puis pesé, la vase tare a été remise avec un couvercle incliné dans l'étuve pendant une demi heure puis pesée comme précédemment. Le séchage a été arrêté lorsque la différence entre les deux pesées est inférieure à 0,02 g dans le cas contraire l'opération a été continuée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

2.1.2. Expression des résultats

La teneur en eau (%) dans la matière végétale est calculée par la formule suivante :

$$\%H_2O = (m_3 - m_1) / (m_2 - m_1) \times 100$$

m_1 : Masse de verre de tare (g).

m_2 : Masse de la prise d'essai avant le séchage (g) + m_1 .

m_3 : Masse de la prise d'essai après séchage (g) + m_1 .

2.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc. (Lendvai et al. 2002).

Le screening est réalisé soit sur la poudre végétale, soit sur l'infusé.

2.2.1. Mise en évidence des flavonoïdes

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

Coloration par le perchlorure de fer ($FeCl_3$).

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonctions phénoliques dans leur génies, donnent des colorations variées avec des diluées de ($FeCl_3$). 2 à 3 gouttes d'une solution de $FeCl_3$ 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**).

2.2.2 Mise en évidence des saponosides

À 100 ml d'eau distillée bouillante sont ajoutés 1 g de la poudre végétale, le mélange était maintenu un quart d'heure et après filtration le filtrat était ajusté à 100ml. 1ml du décocté à 10% était ajusté à 10 ml avec de l'eau distillée, le mélange est agité verticalement puis laisse reposer pendant 15 min. L'apparition d'une mousse qui dure quelque instant indique la présence des saponosides (**Karumi et al, 2004**).

2.2.3. 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 est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Il était introduit 5ml d'infusé à 5 % dans un tube à essais, puis 1 ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 1 % est ajoutée à ce mélange. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noir (**Edeoga1 et al, 2005**).

Tanins Catéchiques

À 5 ml de solution à 5% est ajouté 5 ml de l'HCl. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15mn puis filtré. 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,

1 ml d'une solution de $FeCl_3$ (à 1%) est ajouté, l'apparition d'une teinte bleu noire montre la présence de tanins galliques non précipité par réactif de stiasny(**Edeoga1 et al, 2005**).

2.2.4. 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**).

2.2.5. Mise en évidence des coumarines

1 g de la poudre végétale sont introduites dans un tube à essais, le tube recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH est place dans un bain-marie pendant quelques minutes. 0,5 ml de NH_4OH (10%) sont ensuite ajoutés. Deux tachesont été déposées sur un papier filtre et la révélation est réalisée sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

2.2.6. 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, 2 gouttes de liqueur de Fehling sont ajoutées à 2 ml du filtrat, le chauffage au cours de la réaction de la liqueur de Fehling montre la présence des glycosides (**Chaouch, 2001**).

2.2.7. Mise en évidence des alcaloïdes

À 10 g de poudre végétale séchée sont ajoutés 50 ml de H_2SO_4 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**).

2.3. Préparation des extraits

2.3.1. Préparation de l'extrait aqueux

L'extraction à chaud a été retenue comme technique d'extraction car elle favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale. Pour l'extrait aqueux décocté, 20 g de la plante sèche est ajouté à l'eau distillée (100 ml) à 55 ° C pendant 4 heures

jusqu'à l'ébullition. Le résidu est ensuite filtré et centrifugé (2000 xg, 15 min). Le surnageant est séché à l'aide d'un lyophilisateur. L'extrait aqueux décocté (EAD) est conservé dans un endroit sec (Smachet *al.* 2015).

2.3.2. Préparation de l'extrait hydrométhanolique

Les extraits méthanoliques sont préparés selon la méthode de **Markhan (1982)**. 200 g de la poudre de plante (*Origanum Majorana*) sont macérés dans 80% de méthanol avec agitation de temps en temps. Le filtrat est évaporé dans un rotavapor à 45 C° puis lyophilisé. Le lyophilisat est pesé pour calculer le rendement de l'extraction.

2.4. Détermination du rendement

L'extrait aqueux et l'extrait hydrométhanolique récupéré après lyophilisation sont pesés pour déterminer le poids sec résultant, ces extraits renferment les flavonoïdes et les composés phénoliques. Le rendement des extraits est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R(\%) = 100 \cdot \frac{Me}{Ms}}$$

R : Rendement en %.

Me : La masse de l'extrait après lyophilisation en g.

Ms : La masse sèche la plante en g.

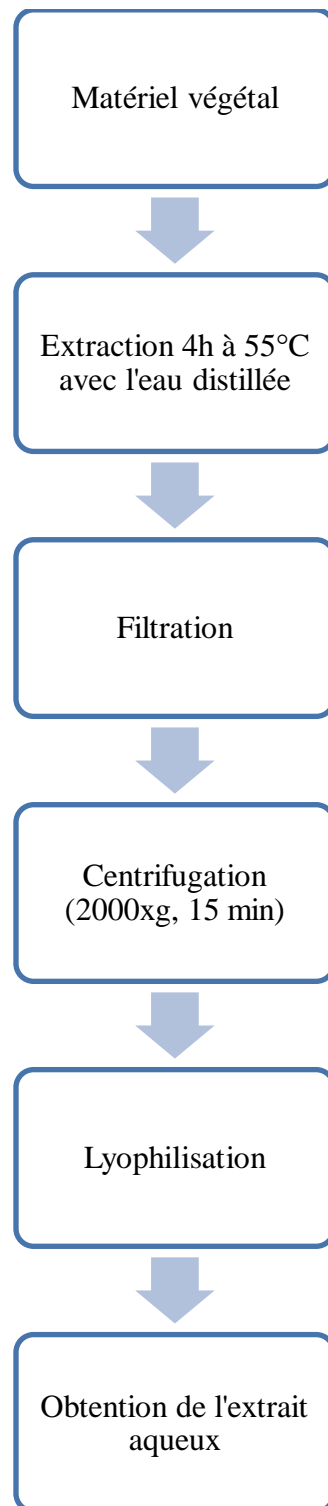


Figure 10 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux.

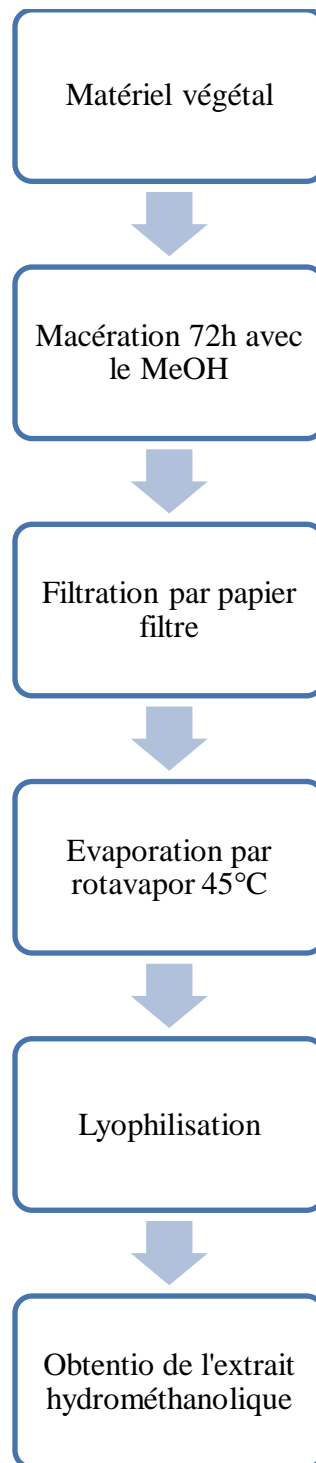


Figure 11 : protocole de préparation de l'extrait hydrométhanolique.

2.5. Dosage des polyphénols

La méthode la plus utilisée pour la quantification des polyphénols est celle de FolinCiocalteu décrite par **Liet *al* (2007)**. Le réactif est constitué par un mélange d'acidephosphotungstique (WO_4) et d'acide phosphomolybdique(MoO_4).

L'oxydation en milieu alcalin du réactif Folin-Ciocalteu par les groupements oxydables descomposés phénoliques conduisent à la formation d'un mélange d'oxyde bleu. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765nm, l'intensité de la coloration produite etproportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait testé (**Georgé *et al*, 2005**). 200 µl d'échantillon ou de standard (préparés dans le méthanol) avec desdilutions convenables ont été ajoutés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10. Après 4minutes, 800 µl de carbonate de sodium saturé (0,75%) sont ajoutés. Après 2 h d'incubationàtempératureambiante, l'absorbance est mesurée à 765 nm.

L'acide gallique (0-200 µg/ ml) est utilisé pour comme standard purd'établissement de la courbe d'étalonnage et les résultatssont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait.

2.6. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est réalisé à l'aide de la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (**Mbaebie *et al*,2012**).

La formation d'une liaison covalente entre le trichlorure d'aluminium et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes produits un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430nm. Les échantillons sont préparés par la dissolution de 1mg extrait /1ml méthanol. 1 ml de chaque échantillon est ajouté à 1 ml de la solution d' $AlCl_3$ (2%), dans le méthanol. après une incubation de le début de la réaction, l'absorbanceest lue à 430 nm.

Une gamme étalon étaitétablie séparément avec la quercétine (0-40 µg/ml) pour calculer la concentration des flavonoïdes dans chaque extrait. Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de lyophilisat.

2.7. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des composés qui permet d'analyser la complexité d'un mélange. Cette technique a été utilisée pour visualiser la séparation des molécules des deux extraits (Abedini, 2013).

Mode opératoire

- **A / Préparation de la phase mobile** : La cuve de migration est partiellement remplie du mélange de solvant (phase mobile) afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant ce qui facilite et améliore la migration. La phase mobile est constituée d'un mélange de solvants. Différents solvants sont utilisés pour définir celui qui donne une meilleure séparation. Selon la méthode de Diallo *et al.*, (2004) et Botosoa (2010) avec quelques modifications, l'analyse des deux extraits aqueux et méthanolique lotus est réalisée par un système de séparation BAW (Butanol/Acide acétique/Eau) avec des proportions de (v/v/v)(60/20/20).
- **B / la phase stationnaire** : La chromatographie sur couche mince est réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de silice sur des plaques en aluminium.
- **C / Le dépôt des échantillons** : Les plaques sont découpées aux dimensions voulues. Les deux extraits ainsi que les standards ont été dissous dans du méthanol. Le dépôt de 10µl de chaque extrait (20mg/ml) et des standards : Quercétine, Acide Gallique (1.25mg/ml) se fait avec une micro-seringue d'une façon perpendiculaire et linéaire, à 1,5cm du bord inférieur de la plaque, et à 1,3cm à partir des bords latéraux, avec 1cm d'espacement, ensuite les plaques sont séchées à l'étuve à 100°C pendant 5min.
- **D / Développement des plaques** : Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (chromatographie ascendante) (Sine, 2003).



Figure 12 : Plaque CCM dans une cuve à chromatographie

On détermine alors, pour chaque constituant, le Rapport frontal Rf :

$$R_f = \frac{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et le centre de la tache du produit}}{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et le front du solvant}}$$

2.8. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode au DPPH

Pour étudier l'activité antiradicalaire des deux extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement instable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites anti oxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphénylpicryl-hydrazine : de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (**Sanchez-moreno, 2002**). Selon le protocole décrit par **Mansouri et al (2005)**., la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (6×10^{-5} M). 25 μ l des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975 μ l DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif (témoin négatif) contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. les résultats sont exprimés en pourcentage antiradicalaire et calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration, selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité antiradicalaire} = \frac{(\text{Abs contrôle}) - (\text{Abs Echantillon})}{(\text{Abs contrôle})} \times 100$$

Abs contrôle: absorbance de contrôle négatif

Abs échantillon : absorbance de la solution d'extrait méthanolique

L'activité antioxydante de l'E.Aq et l'E.Métvis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

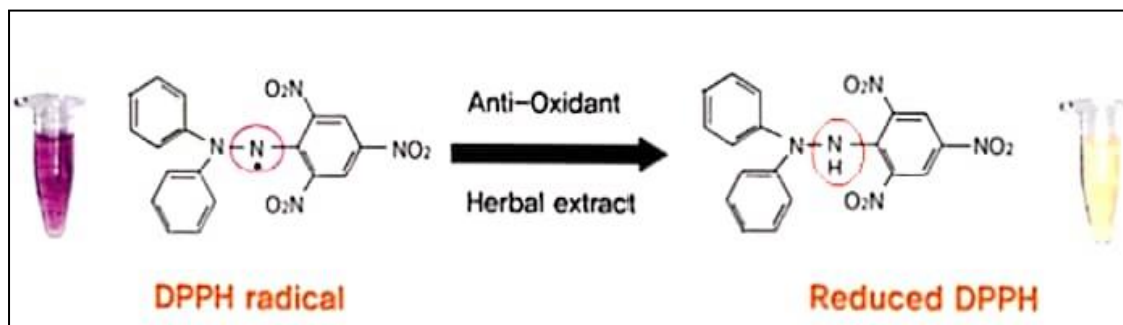


Figure 13: forme réduite DPPH et la forme radical du DPPH(Molyneux, 2004)

Pour l'évaluation de cette activité, une gamme de dilutions est préparée allant de 0 à 2 mg/ml pour l'acide ascorbique et des deux extraits méthanoliques.

Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque extrait, une courbe d'allure exponentielle, ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel.

❖ Calcul des IC50

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (Torres *et al.*, 2006).

N.B : L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

Chapitre02
Résultats et
discussion

1. La teneur en eau

- Application numérique :

$$\%H_2O = \frac{(20,65 - 20)}{(22 - 20)} \times 100 = 32,5\%$$

Les végétaux sont riche en eau, l'analyse des échantillons a révélé un taux d'humidité de **33%** cela signifie que presque la moitié du poids de la plante fraiche est constituée par l'eau.

2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est exprimé en gramme de masse d'extrait par rapport à cent gramme de la plante fraiche (**Mahmoudi et al., 2012 modifié**), le rendement le plus élevé a été observé dans l'extrait aqueux, par rapport à l'extrait hydrométhanolique

Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des solvants), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en métabolites secondaires, et par conséquent affecte les activités biologiques médiées par ces métabolites (**Lee et al., 2003**).

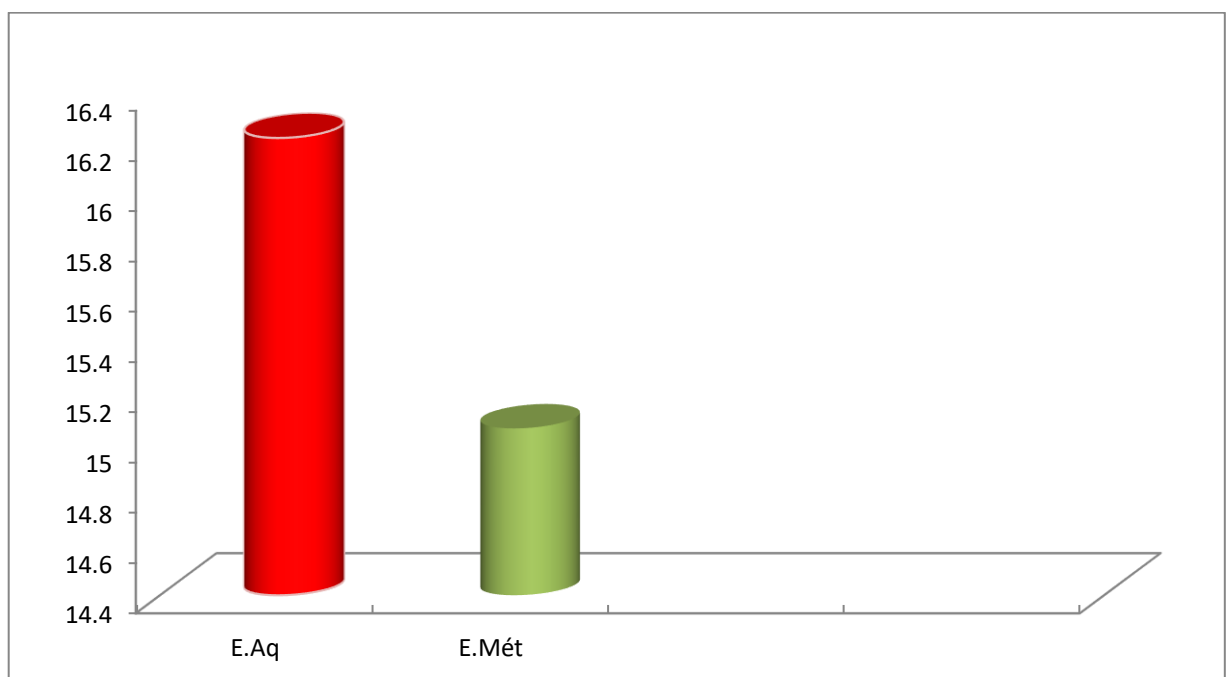


Figure 14 :Présentation graphique des rendements après lyophilisation pour les deux extraits. (Aq : aqueux ; Mét : hydrométhanolique)

3. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques 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 07 : Criblage phytochimique d'*O.majorana*

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

(-) : absence ; (+) : présence

Les résultats expérimentaux de tests phytochimiques (**tableau 07**) 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 la marjolaine explique leur fort pouvoir thérapeutique. C'est ce qui justifie la large utilisation de cette plante en médecine traditionnelle par la population locale. En effet, 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).

4. Dosage des polyphénols

Le taux de polyphénols totaux des deux extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire (Figure 15) établie avec des concentrations précises d'acides gallique comme standard référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué afin de caractériser la teneur des extraits préparés à partir de la plante étudiée *Origanum majorana*. La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par la méthode du Folin Ciocalteu l'acide gallique a été utilisé comme standard. Ils'agit d'une méthode qui satisfait aux critères de fiabilité et de reproductibilité (Huag et al , 2005).

Les teneurs sont exprimées en μg équivalent d'acide gallique pour mg de l'extrait (mg EAG/mg E), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

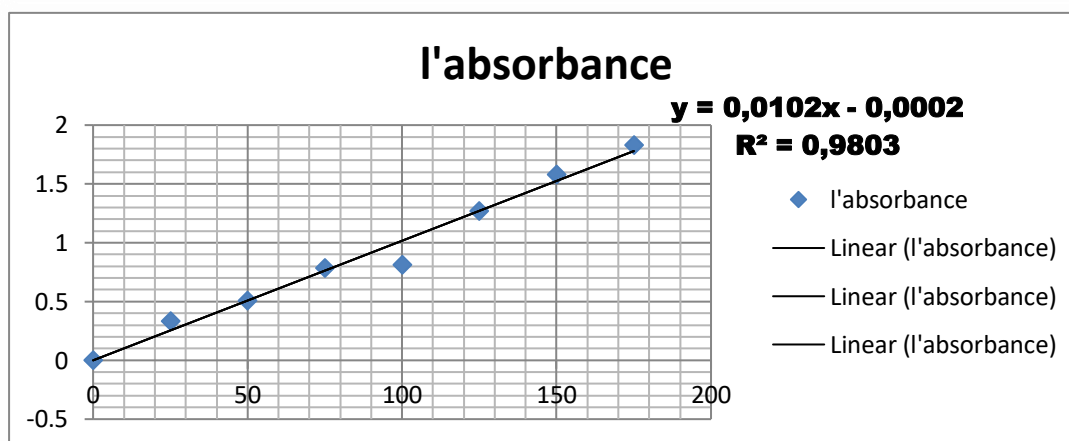


Figure 15: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

Les résultats du dosage des composés phénoliques sont représentés dans le **tableau 08**. La teneur en composés phénolique de chaque extrait de la plante est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de l'extrait sec.

Tableau 08: Résultat du dosage des polyphénols totaux des extraits

Extrait	polyphénols totaux (mg.EAG/g)
Aqueux	129,48
Méthanolique	146,09

Les teneurs en polyphénols pour l' extrait aqueux et méthanolique sont respectivement 129.48 mg EAG/ g pot et 146.09 mg EAG/g .Il est bien constaté que la quantité de l'extrait méthanolique est nettement supérieur à celle de l'extrait aqueux . Ceci est probablement du au solvant utilisé pour la préparation des extrait qui pourrait influencer sur l'estimation de la teneur des polyphénols totaux (Lee et al ,2003).

Les résultats obtenus sont inférieures de ceux obtenus par **Beuchikha et al ; 2003** qui ont enregistré un teneur en polyphénols égale à 266,86 mg.EAG/g et 194, 78 mg.EAG/g pour *Origanum hortensis* et *origanum vulgare* respectivement. Ce qui n'est pas le cas de l'étude de **Sellami et al ; 2009**, ou les taux obtenus des polyphénols était de 5.20 mg GAE/g. Cette valeur est inférieures de celle obtenue dans la présente étude.

Cette variance peut être en raison de plusieurs facteurs notamment la présence dans les cellules végétales de différents types d'enzymes, susceptibles de changer les composés phénoliques (Ribéraux, 1982). En plus le contenu en polyphénols varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Ce qui est probablement dû au génotype et aux conditions agro climatiques (Ebrahimi et al, 2008). Ainsi qu'à la période de la récolte et le stade du développement de la plante.

5. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium, en se référant sur l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine.

L'analyse des résultats montre que l'extrait aqueux et l'extrait hydrométhanolique contiennent respectivement 9,04 mg EQ/g d'extrait et 29,14 mg EQ/g d'extrait notant que l'extrait hydrométhanolique est plus riche en flavonoïdes. Par simple comparaison des taux trouvés, l'extrait hydrométhanolique est plus riche en flavonoïdes que l'extrait aqueux.

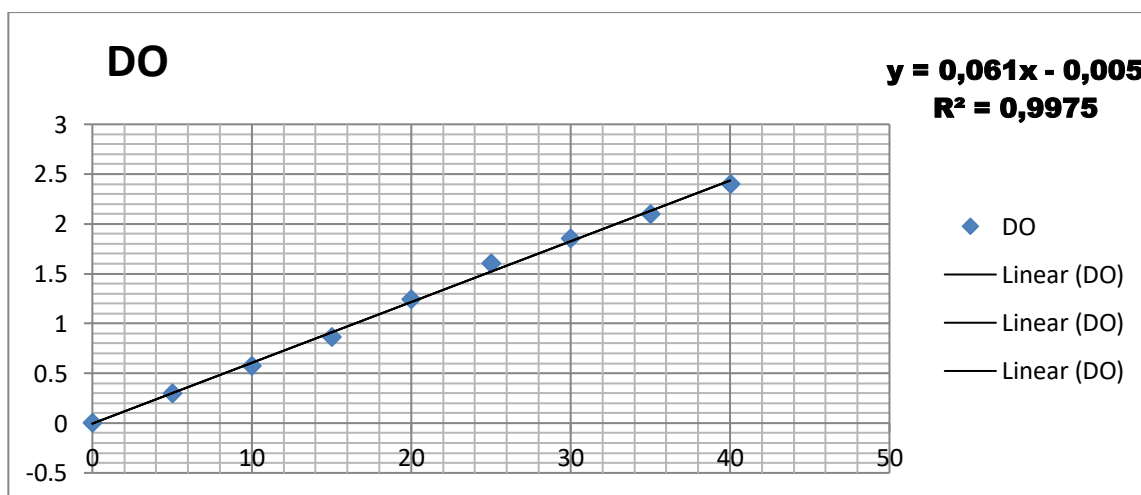


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes dans l'extrait de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés de la préparation des extraits. Dans une étude sur une espèce de genre (*origanum.vulgare*) réalisée par **Beuchikha et al;2013**, les valeurs variaient de 36.63 à 57.55mg EQ/g ce résultat est supérieure à celui enregistré dans la présent étude.

La teneur élevée des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait méthanolique comparée a l'extrait aqueux est logique étant donné que les flavonoïde représentent la classe majoritaire des polyphénols (**Ben Sahel , 2009**).

Ceci pourrait être expliqué par le métabolisme de plante ; la température, la nature du sol et la saison de croissance (**Djendane et al., 2006 ;Feeka et Turek, 2007; Dent et al., 2017**).

6. Chromatographie sur couche mince

Il a été utilisé le système de solvant suivant (Butanol – Acide acétique – Eau distillé). Le chromatogramme obtenu à 365 nm représente quatre spots (**voir figure 17**), dont les rapports frontaux sont consécutivement : 0.96, 0.84, 0.69 et 0.58 le front du solvant était de 7cm



Figure 17 : Chromatographie sur couche mince des extraits étudiés

Les rapports frontaux ont été calculés selon l'équation suivante :

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

La chromatographie sur couche mince qui est effectuée sur les extraits hydro-méthanolique et aqueux a permis de confirmer la présence des composés poly-phénoliques dans la plante étudiée.

7. Evaluation de l'activité antioxydante (DPPH)

L'évaluation de l'activité anti radicalaire a été réalisée *in vitro* par la méthode de piégeage du radical DPPH, les pourcentages d'inhibition du radical DPPH, nous ont permis de tracer une courbe exponentielle pour chaque extrait.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule suivante:

$$I\% = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

Avec:

AC : Absorbance du contrôle

AT : Absorbance du test effectué.

Calcul des IC50 : IC50 ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC50 pour efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH°. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

Il a été remarqué expérimentalement, que l'absorbance du mélange diminue vers une valeur plus basse. La comparaison et la validation des résultats sont effectués avec un contrôle positif utilisant l'acide ascorbique. L'ensemble des résultats sont regroupés dans le **Tableau** (voir annexes).

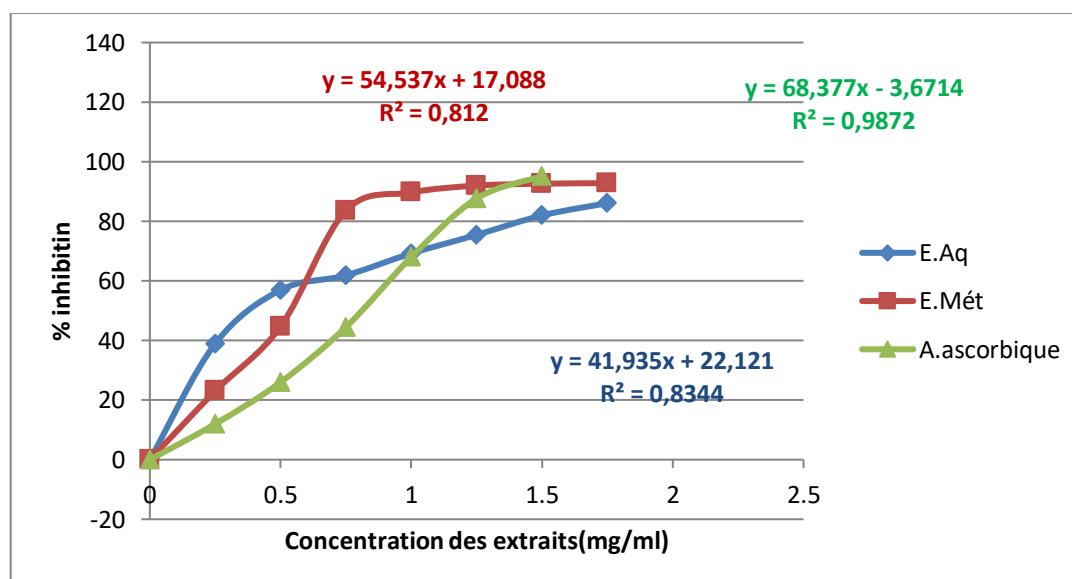


Figure 18 : Evaluation de pourcentage d'inhibition d'oxydation par le radical DPPH en fonction de la concentration des l'extraits de la marjolaine.

Le pourcentage de réduction de l'activité du DPPH de l'extrait aqueux de la partie aérienne de la marjolaine est de (86,08 %) à une concentration de 1.75mg/ml. L'IC 50 est de 0,66 mg/ml.

En comparant les IC50 des différents extraits testés de la marjolaine par rapport à celle de l'acide ascorbique, il est bien remarqué que l'activité antioxydante des extraits préparés est intéressante. Ces résultats montrent aussi que la marjolaine possède une activité antioxydante.

EL Howiriny, 2009 a montré l'existence des différents composés chimiques : les flavonoïdes, les tanins et les stérols ces derniers sont dotés d'un pouvoir antioxydant et d'une capacité à céder l'hydrogène (donneurs d'hydrogène) afin de piéger les radicaux libres. Les mêmes constatations ont été faites par **Lean et Mohamed, 1999 ; Selami et al, 2009** **Bertelson et Medsen, 1995 ; Yasin et Abou taleb, 2007.**

La meilleure activité anti-péroxydation a été observée avec l'extrait hydrométhanolique de la marjolaine et l'acide ascorbique avec une EC50% de 0,60 mg/ml et 0,78 mg/ml respectivement.

Nos résultats révèlent que cet extrait possède une activité antioxydante très importante. Dans une étude similaire réussie par **Hussain et al., 2011** les résultats ont montré que l'huile essentielle des parties aérienne de l'*O. majorana* possède une activité antioxydante très importante avec IC50=89.2 µg/ml. Les mêmes observations ont été aussi faites par **Ahmed, Abdelmalek et Yagoubi, 2017** ont avec une IC50 = 30mg/ml. Néanmoins nos résultats 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 hydrométhanolique et aussi aux conditions agro-climatique (T°, ...etc). Selon **Lanseur, 2017** le pouvoir antioxydant des plantes est en étroite relation avec la saison de la récolte.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et biologique de l'espèce *Origanum majorana*, plante médicinale et aromatique de la famille des Lamiaceae. Cette plante est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle Algérienne pour le traitement des infections de l'appareil respiratoire, et administrée exclusivement par voie orale.

Dans cette étude, nous avons tenté, par l'adoption d'une méthodologie scientifique, de valoriser l'avantage de cette plante en cherchant la technique ou méthode d'extraction la mieux adaptée, qui permet le meilleur rendement vis-à-vis l'activité biologique de cette plante. En effet, plusieurs axes de recherche sont investis et des résultats intéressants sont obtenus.

Le screening phytochimique de cette plante a montré la présence des flavonoïdes, les saponosides, les tanins, les tanins catéchiques, les mucilages, les glycosides et l'absence des tanins gallique, les coumarines, les alcaloïdes.

Les extraits ont été obtenus par macération dans deux solvants polaires : l'eau et le méthanol. Les rendements respectifs sont : 16,22g de poudre, 15,07g de poudre.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adaptant la méthode de Folin Ciocalteu révèle que nos deux extraits contiennent principalement des polyphénols à des concentrations dominantes. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ ce qui nous mène à remarquer leur présence dans les extraits en différentes proportions.

Il ressort de ces analyses que l'extrait hydrométhanolique est le plus riche en polyphénols et flavonoïdes que l'extrait aqueux.

La technique utilisée pour étudier l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et aqueux est la méthode de DPPH qui a révélé que les deux extraits ont une activité antioxydante différentes, sachant que l'extrait aqueux est le plus actif.

O. majorana a des compositions chimiques originales et présentent des spécificités micro régionales. En plus, elles manifestent des activités antioxydantes plus ou moins intéressantes.

A la lumière de résultats obtenus, nous concluons que la méthode d'extraction par le solvant hydrométhanolique est plus rentable en comparaison à celle par l'eau. Il peut être judicieux de développer ce travail et l'étendre sur d'autres méthodes d'extraction et d'autres plantes médicinales afin d'adapter la méthode la plus valorisante.

Résumé

Résumé

Résumé

Origanum majorana est une plante qui appartient à la famille des Lamiacées. C'est une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle en Algérie pour traiter diverses maladies. Les différentes parties de cette plante (racines, feuilles, tiges..) ont été soumises à une extraction obtenue par macération dans deux solvants polaires : l'eau et le méthanol. Les tests phytochimiques réalisés ont permis de détecter les polyphénols et flavonoïdes. L'évaluation du pouvoir antioxydant appliquée a été réalisée par la technique Piégeage du radical DPPH. Les résultats ont révélé que l'extrait méthanolique est plus riche en polyphénols et en flavonoïdes que l'extrait aqueux. et il présente un pouvoir antioxydant plus important que celui enregistré avec l'extrait aqueux.

Mots clés: *Origanum majorana*, Etude phytochimique, polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydante DPPH.

Abstract

Origanum majorana a plant that belongs to the Lamiaceae family. It is a medicinal plant used in traditional medicine in Algeria to treat various diseases. The different parts of this plant (roots, leaves, stems..) were subjected to extraction obtained by maceration in two polar solvents: water and methanol. Phytochemical screening carried out revealed the presence of important level of polyphenols and flavonoids. The evaluation of the antioxidant capacity was carried out by the DPPH method of antioxidant assay. The results revealed that the methanolic extract is richer in polyphenols and flavonoids than the aqueous extract. Also, the latter has a greater antioxidant capacity than that it was recorded with the aqueous extract.

Keywords: *Origanum majorana*, Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity DPPH.

ملخص

البردقوش او المرقدوش المعروف بـ *Origanum Majorana* هو احد النباتات العطرية التي تنتمي لفصيلة النعانيح ويتواجد بكثرة في منطقة حوض البحر الابيض المتوسط وقد استخدم بشكل موسع منذ القدم في طب الاعشاب و الطب البديل فهو يستخدم لعلاج الكثير من الامراض نذكر منها : مشاكل الجهاز الهضمي وتكبيس المبايض عند النساء وعلاج مرض السكري و الصداع. لهذا قمنا ببعض الدراسات النباتية حول هذه النبتة حيث قمنا باستخلاص المواد الفعالة نذكر منها: Polyphénols و flavonoïdes وقمنا ايضا بتحضير مستخلصين من البردقوش مستخلص مائي و مستخلص ميثانولي. و في الاخير قمنا باختبار النشاط المضاد للأكسدة الذي حدده حيث اظهر ان مضادات الاكسدة الموجودة في المستخلص المائي اكبر من مستخلص الميثانول .

الكلمات المفتاحية : البردقوش، مضادة الاكسدة، الفلافونويد، متعدد الفينول.

Annexes

1. Produits chimiques et réactifs

1.1. Partie phytochimique

- Méthanol, H_2SO_4 , $FeCl_3$, HCl, NaOH, NH_4OH , 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_2O_2).
- KCl.
- 2-thiobabaturicacide(TBA).
- Dodécylsulfate de sodium (SDS).
- Acide acétique.
- Butan-1-ol.

2. Equipements

- Rotavapeur R-215 (Büchi).
- Plaque chauffante.
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305).
- Cuve de chromatographie.
- Balance (BB310) et (Sartorius).
- Balance de précision (Explorer® Pro).
- Verreries.
- Bain marré.
- Tubes capillaires.
- Agitateur magnétique.
- Centrifugeuse (Sigma 2-16).
- UV.

Annexes

- Chambre noire.
- Lyophilisateur.
- Dessiccateur.

2. Solution utilisées

Tampon phosphate : Na₂HPO₄ (14.1g) dans 500ml d'eau distillée+ H₂N₂O₄P.2H₂O (15.6g) dans 500ml d'eau distillée, avec ph=7.4.

Réactif de Mayer composition : Iodure de potassium (KI) 25 g, chlorure mercurique(HgCl₂) 6,8 g, eau distillée (1000 ml).

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

Tableau : Test de réduction du radical DPPH° par les extraits d'Origanum majorana

Échantillons (mg/ml)	Pourcentage deréduction de DPPH (%)	IC50 (mg/ml)
Extraitméthanolique		
0		
0.25	0	
0.5	23,07	
0.75	44,68	
1	83,63	0,60
1.25	89,68	
1.75	91,89	
2	92,63	
	92,79	
Extrait aqueux		
0	0	
0.25	38,95	
0.5	56,95	
0.75	61,86	0,66
1	69,23	

Annexes

1.25	75,45	
1.5	81,99	
1.75	86,08	
Acide ascorbique		
0	0	
0.25	12	
0.5	26	0,78
0.75	44.5	
1	68	
1.25	87.7	
1.5	95.08	

*Références
bibliographiques*

-A-

- **Abedini. A. (2013).** Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé, Lille II. HAL. 2014. p 84-85.
- **Aiboud K. (2012).** Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (coléoptère : Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des grains de vigne *Vigna unguiculata* (L) Walp. mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.
- **Aiche – iratni G. (2016).** activité biologique, d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* et d'*Origanum Majorana*. Thèse de doctorat d'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques. Département de biochimie microbiologie. Spécialité : Microbiologie, page 07.
- **Amar M. H. et El Wahab M. A. (2013).** Comparative genetic study among *Origanum L.* plants grown in Egypt. *J Bio Env Sci*, 3, 208-222.
- **Amlan K et Patra J.S. (2010).** A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71: 1198–1222.
- **A.P.S (Algérie Presse Service). (2015).** Plantes aromatiques et médicinales en Algérie: un marché potentiel non structuré.
- **Awika M.J et Rooney W.L. (2004).** Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health, *Phytochemistry*. Ed, 1199-1221.), Page.65.

-B-

- **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 antioxydantes, 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.

Références bibliographiques

- **Bekhechi C. (2008)**-Analyses les huiles essentielles de quelque espèces aromatiques de la région de Tlemcen par GC-RI, CC, GC-MS, RMN et étude leur pouvoir antibactérienne ., thèse doctorat ., Université Abou bakr Belkaïd - Tlemcen.
- **Bélangier G. (2008)**. La Chimie du Carbonyle et des Substitutions. COR301 Chimie Organique II, Univ. Sherbrooke, Canada, 6 p.
- **Benhouhou S. (2015)**. A brief overview on the historical use of medicinal plants in Algeria.
- **Ben Moussa MT. (2007)**. Phytothérapie, Laboratoire de pharmacognosie (3ème année).Département de pharmacie Batna.
- **Binov L. (2001)**. Oxydants/antioxydants : un équilibre important. 68: 53-62.
- **Bossokpi I .P .L.(2002)**.Etude des activités biologiques de Fagara zanthoyloides Lama(Rutaceae).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako.
- **Botosoa J. A. (2010)**. Purification et caractérisation chimique et biologique partielles des principes actifs des extraits de feuilles de Pechia madagascariensis (apocynaceae). Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme d'Études Approfondies (DEA) Université d'Antananarivo. Mémoire en ligne. p 13.
- **Bouchouka E. (2016)**. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Annaba Université Badji mokhtar
- **Bouhadouda N. (2016)**. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sollocal: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Diplôme de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba.
- **Boumediou A et Addoun S.(2017)**. Etude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen.67p.
- **Brand-Williams W., Cuvelier MetBereset C. (1995)**.Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel- Wissenschaft und –Technologie. Ed, 25-30. Page.28

-C-

- **Caillaud M. A. (2013)**.Etude de l'espèce *Origanum Vulgare*L, thèsedoctorant. Université Nantes.
- **Cardenas Rodriguez N., Huerta Gertrudis B., Rivera Espinosa L., Montesinos Correa H., Bandala C., Carmona Aparicio L. & Coballase-Urrutia E. (2013)**.Role of

Références bibliographiques

oxidative stress in refractory epilepsy: evidence in patients and experimental models. *International Journal of Molecular Sciences* 14, 1455-1476.

-
- **Chabrier Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Université Henri Poincaré, Nancy 1 faculté de pharmacie Année universitaire 2009-2010. p 107.
- **Chaouch N. (2001).** Etude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N°39; sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla, 44.
- **Chickoune A. (2007).** Huiles essentielles de thym et d'Origan étude de composition, de l'activité antioxydant antimicrobienne. mémoire de magister. Institut nationale agronomique El Harrach- Alger.

-D-

- **Dai J and Mumper R. J. (2010)** .Plant Phenolic: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10): 7313-52.
- **Diallo D, Sanago R, Yasambou H., et al. (2004).** Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *CR Chimie*, 7: 1073–80.
- **Davies K.J.A. (2000).** Critical review oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50: 279–289.
- **Djahra A B. (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, anti hépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L., thèse doctorat. Université Badji Mokhtar - Annaba.
- **Dorman H.J.D., Peltoketo A., Hiltunen R., Tikkanen M.J., (2003).** Characterization of the antioxidant properties of deodorised aqueous extracts from selected Lamiacea herbs. *Food Chem.* 83, 255-262.
- **Dubois J., Mitterand H. & Dautat D. A. (2006).** Dictionnaire étymologique et historique du français –Larousse.
- **Dutertre J. M. (2011)** .Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Université. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France, p 33.

-E-

- **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.
- **El Brahimi R. (2014).**Caractérisation morphologique et phénologique de quelques accessions d'*Origanum compactum* ., mémoire de magister ., Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- **Elqaj M., Ahami A., et BelghytiD. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

-F-

- **Farnsworth NR and Soejarto D.D. (1991).** Global importance of medicinal plants. The conservation of medicinal plants. V. H. a. H. S. O. Akerele, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 25-52 p.
- **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.
- **Ferguson L. R. (2001).** Role of plant polyphenols in genomic stability. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 475, 89–111.
- **Figueredo G. (2007).** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. thèse doctorat. Université Blaise Pascal.

-G-

- **Gardés Albert M., Bonnefont Rousselot D., Abedinzadeh Z. & Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique. Actualité Chimique: 91-96.
- **Gayet C et Pierre M. (2013).** Guide de poche de phytothérapie acné, migraine, ballonnements... Soignez-vous avec les plantes. Edition Quotidien matin. p 13-21.
- **Ge M., O'Reilly A., Baillie N., Twentyman G., Sturt J., Fitzpatrick M. & Taylor T. (2008).** Vitamin C: Evidence, application and commentary. Original Scientific Paper 35(5), 312-318.

Références bibliographiques

- **Gentiana (Fondation pour la connaissance des plantes médicinales).** (2001).Importances des plantes médicinales dans notre société.
- **Georgé S., Brat P., Alter P., Amiot J.M. (2005).** Rapid determination of polyphénols and Vitamin C in plant-derived products. *J. Agr. Food Chem.* 53; p: 1370-1373.
- **Ghnimi W. (2015).**Thèse doctorat en cotutelle.Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété antioxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acetylcholinestérase.Universite de Lorraine(France) et universite de Carthage (tunisie) .27p
- **Govindarajan R., Vijayakumar M. etPushpangadan P. (2005).**Antioxidant ap-proach to disease management and the role of 'Rasayana' herbs of Ayurveda. *J. Ethno pharmacol*, 99: 165–178.
- **Greathead H. (2003).**Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62:279–290.

-H-

- **Hannan A., Karan S. & Chatterjee T. K. A. (2012).** Comparative Study Of In-Vitro Antioxidant Activity Of Different Extracts Of Areca Seed Collected From Areca Catechu Plant Grown In Assam. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(2), 420-427.
- **Heim K., Tagliaferro A and Bobilya D. (2002)** .Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- **Hoffmann D. (2003).**Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine. Ed. Inner Traditions / Bear & Co, 90 p.
- **Hopkins W.G. (2003).** Physiologie végétale. Ed. Boeck et Lancier SA, Paris, 514 p.
- **Hordé P. (2014)** .Plantes médicinales – Définition. Consulté le 05/04/2022. [http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/32986-plante-medicinale definition#simili_main](http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/32986-plante-medicinale-definition#simili_main).
- **Hussain I., Anwar F., Rasheed 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.

-I-

- **Iris F.F., Benzie I.F., et Strain J.J. (1999).** Ferric reducing antioxidant power assay, *Methods Enzymol*, 299, 15–27.
- **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., et al. (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse. p 6-12.
- **Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse-bordas, paris : 275 p.

-J-

- **Jayasena T., Poljakb A., Smytheb G., Braidya N., Münchd G. & Sachdeva P. (2013).** The role of polyphenols in the modulation of sirtuins and other pathways involved in Alzheimer's disease. *Ageing Research. Reviews*.
- **Jesus C. (2017).** de la marjolaine : mode d'emploi.
- **Jesus C., (2019).** de la plante au remède : mode d'emploi.
- **Judd w.-s., campbell c.-s., Kellogg E.-A., and Stevens P.-F. (2002).** botanique systématique une perspective phylogénétique. 1ère édition de Boeck. Université. Paris, 383p.

-K-

- **Kamra D.N., Agarwal N., and Chaudhary L.C. (2006).** Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*, 1293: 156–163.
- **Karumi Y., Onyeili P.A., Ogugbuaja V.O., 2004.** Identification of active principal of *M.balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*. 4(3):179-182.
- **Khaldi A., Meddah B., Moussaoui A. & Benmehdi H. (2012).** Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. *European Journal of Scientific Research* **80(3)**, 311-321.
- **Kim M. H., Bae S., Kim Y., Cho C., Kim S. J., Kim Y., Lee S., Kim. H., Hwang Y., Kang J. S & Lee W. J. (2013).** Vitamin C prevents the stress-induced damages on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through the down-regulation of the

Références bibliographiques

excessive production of catecholamine, TNF- α and ROS production in Gulo (-/-) Vit C-Insufficient. Free radical biology and medicine. J. freerad biomed 10, 1016.

- **Kintzios Spiridon E. (2002)** .Oregano: The genera Origanum and Lippia (Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles) -Taylor&Francis
- **Klaas C.A., Wagne G., Laufer S., Sosa S., Loggia R.D., Bomme U., Pahl H.L., and Merfort I. (2002)** . Studies on the anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from Arnica flowers. Planta Med, 68: 385-391.
- **Krishnakumar V and Potty S.N. (2012)**. Central Plantation Crops Research Institute (ICAR), India. In Peter, K. V. (Ed.). Handbook of herbs and spices. Elsevier. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 227. 2nd éd. Vol 1. Page 336.

-L-

- **Labiou R. (2016)**. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de sauge calamintha nepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. thèse doctorat. Université Badji Mokhtar -Annaba .
- **Lakhrissi B., Barrahi M., Boukhraz M., El Hartiti H., El Mostaphi A, Ouhsine M. (2015)**. Antibacterial effect of synergy of two essential oils extracted from marjoram (Origanum majorana) in the region of salé and oregano (Origanum vulgare) in the region of ouazzane, Morocco 10(9): 0974 – 7532.
- **Lamina S., Ezema C. I., Theresa A. I. & Anthonia E. U. (2013)**. Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. Oxidants and Antioxidants in Medical Science 2(2), 83-9.
- **Lendvai B., Zelles T., Rozsa. B. & Vizi ES. (2002)**. Vinca alkaloid exchanges morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. Brain Research Bulletin 59(4), 257-260.
- **Libby P. (2007)**. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. Nutr Rev. Vol.65, p: 6-140.

-M-

- **Mansour A. (2009)**. Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce centaurea africana. Mémoire de magister, Univ. Constantine, 8 p.

Références bibliographiques

- **Macheix J.J., Feurietl A., et Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses poly technologiques et universitaires romandes, France, 192 p.
- **Mansour S. (2015).** Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericum scarboides- Etude in vivo. Thèse de Doctorat, Univ. Mohamed BOUDIAF, Oran, 19 p.
- **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); Food Chemistry 89; p: 411-420.
- **Mbaebie B. O., Edeoga H. O., et Afolayan A. J. (2012).** Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, p 118-124
- **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.
- **Morigane. (2007).** Grimoire des plantes. Ce livre est publié sous la licence libre Creative Commons BYNCND. p 6-8.
- **MouchetJ., Camevale P., Coosemans M., Julvez J., Manguin S., Lenobie D.R., and Sircoulon J. (2004).** Biodeversité du paludisme dans le monde. Ed. John Libbey Eurotext, Paris, 391p.
- **Muqaddas R.,Khera A., Nadeem F., Jilani M.I. (2016).** Essential Chemical Constituents and Medicinal Uses of Marjoram (*Origanum Majorana*L.). International Journal of Chemical and Biochemical Sciences 9: 56-62.

-N-

- **Nanjo F., Goto K., Seto R., Suzuki M., Sakai M., et Hara Y. (1996).** Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Free RadicBiolMd.21 (6), 895-902.
- **Nieto G. (2017).** Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. Medicines. (4) 63., 2-10p.

-O-

- **O.M.S (Organisation Mondiale de la Santé). (2000).**Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation de la médecine traditionnelle.
- **Oullai L et Chamek C. (2018).** Contribution à l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisées pour le traitement des affections de l'appareil digestif en Kabylie. Mémoire de Docteur en Pharmacie. Université Mouloud Mammeri faculté de médecine Tizi-Ouzou

-P-

- **Pelli K et Lyly M. (2003).** Les antioxydantes dans l'alimentation. VTT Biotechnology Finlande.) vol (3) : 9.
- **Pallauf K., Bendall J. K., Scheiermann C., Watschinger K., Hoffmann J., Roeder T. & Rimbach G. (2013).** Vitamin C and lifespan in model organisms. Food and Chemical Toxicology 58, 255-263.
- **Papas A. M. (2008).** Vitamin E: A new perspective. Nutri news 9(1), 1-7.
- **Pastre J, Priymenko N. (2007).**Intérêt des antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Revue Méd. Vol 4:187.
- **Penchev P.I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique. Toulouse, 7 p.
- **Perovskites and Related Mixed Oxides. (2004).**Concept and application, Shimizu H, Ed 26, 1-10, Page 17.
- **Pinelo M., Rubilar M., Sineiro Jet M. J. Nunez M.J. (2004).**Extraction of antioxidant phenolic form almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*), Food chemistry. Ed, 267-273. Page.85.
- **Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009).**Evaluation de l'activité antioxydante des Composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de Génie Industriel, 4, 25-39.
- **Proestos C., Lytoudi K., Mavromelanidou O. K., Zoumpoulakis P. & Sinanoglou V. J.(2013),**Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. Antioxidants 2, 11-22.

-R-

- **Rajesh K., Swamy A. H. M. V., Inamdar S. S., Joshi V. & Kurnool A. N. (2013).** Hepatoprotective and antioxidant activity of ethanol extract of menthaarvensis leaves against carbon tetrachloride induced hepatic damage in rats. *International Journal of Pharm Tech Research* 5(2), 426-430.
- **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. 1ère 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.

-S-

- **Saidj F;(2007).** Extraction de l'huile essentielle de thym thymus numidicus kabylica. mémoire de magister ., Université M^oHamed Bougara-Boumerdes.
- **Sanago R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.
- **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.
- **Sanders T. & Emery P. (2003).** Molecular basis of human nutrition. Taylor & Francis (7), 107.
- **Savini I., Catani M. V., Evangelista D., Gasperi V. & Avigliano L. (2013).** Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int. J. Mol. Sci* 14, 10497-10538.
- **Scalbert A., Manach C., Morand C and Rémésy C. (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 287–306. SCHELZ Z.
- **Schaal S.(2010).** Les plantes médicinales des pelouses calcaires de la réserve naturelle de Montenach (57)., thèse doctorat. Université Henri Poincare – Nancy 1
- **Sean H et Timothy R.(2005).** Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Réseau canadien d'info traitements sida (CATIE). Edition révisée. Canada. Paul R., Saunders, PhD. p 43.

Références bibliographiques

- **Sebai M et Boudali M. (2012).** La Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel d'infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical, Alger, p 9.
- **Shan B., Cai Y.Z., Sun M., Corke H., (2005).** Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Jornal of the Agricultural and food Chemistry*.59, 7749-7759.
- **Sharifi-Rad M., Yilmaz B.Y., Antika G., Salehi B., Tumer T.B., Venil C.K., Das G., Patra J.k., Karazhan N., Akram M., Iqbal m., Imran M., Sen S., Acharya K., Dey A., Sharifi-Rad J. (2020).** Phytochemical constituents, biological activities, and health-promoting effects of the genus *Origanum*. *Phytotherapy Research*. 1-27.
- **Sheng-Ji P. (2001).** Ethnobotanical Approches of Traditional Medicine Studies: Some Experiences from Asia. *Pharmaceutical Biology*, 39: 74-79.
- **Simonnet X., Quennoz M., Bellenot D., Pasquier B. (2011).** evaluation agronomique et chimique de différentes espèces d'origan. *suisse viticulture, Arboriculture, Horticulture*. (43)6. ,344–349p.
- **Sine J. P. (2003).** Séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses éditions marketing S A. p 99-101.
- **Sofowora A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Ed. Karthala, France, 378 p.
- **Spichiger R.-E., Vincent V.-S., Figeat M., et Jeanmonod D. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs « une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempères et tropicales. 3eme Ed. press polytechniques et universitaire romandes Lausanne, Suisse, p.328.
- **Strang C. (2006).** Larousse medical. Ed. Larousse, Paris, 1219 p.
- **Suffness M. (1995).** Taxol science and applications. Ed. CRC: Boca Raton, Florida, 424 p.

-I-

- **Tang S. Y. & Halliwell B. (2010).** Medicinal plants and antioxydants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 031-5.
- **Tripathy B., Satyanarayana S., Abedulla Khan K., Raja K. (2017).** An Updated Review on Traditional Uses, Taxonomy, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Origanum Majorana* .*Int J Pharma Res Health Sci* 5 (4): 1717-1723.

-V-

- **Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M. & Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160, 1-40.
- **Vasudeva N and Goel P. (2015).** *Origanum Majorana L.*-Phyto-pharmacological review. Department of Pharmaceutical Sciences, Guru Jambheshwar University of Science and Technology, Hisar, Haryana, India. *Indian Journal of Natural Products and Resources* Vol. 6(4), 261-267.

-W-

- **Waksmundzka-Hajnos M and Sherma J. (2011).** High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical science. *Chromatographic Science Series*, 102: 477-478.
- **Wichtl M., Anton R. (2009).** *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.* Edition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

-Y-

- **Yang Y. & Clements D. J. (2013).** Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate. *Food Chemistry* 141, 473–481.
- **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 thymussatureioides *Coss* et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne. thèse doctorat .Université Mohammed Agdal.
- **Zhu Q., Qian Y., Zheng Z. P., Lo C., Chen F. & Wang M. (2012).** Natural polyphenols alleviated lipid peroxidation– induced modification on BSA. *Journal of functional.*