

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCCEN–

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

Département de Biologie

Laboratoire :

Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie :

synthèse et activités biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Biochimie appliquée

Thème :

Etude phytochimique et évaluation de l'activité
antiradicalaire des extraits d'*Origanum majorana*

Présenté par :

M^{elle} BELKADI Sara & M^{elle} BENABDALLAH Fatima Zohra

Soutenu le 27-06-2022 devant les membres de jury :

Présidente :	MEDJDOUB Houria	MCB	Univ. Tlemcen
Encadreur :	AZZI Rachid	Pr	Univ. Tlemcen
Examinatrice:	BOUALI Waffa	MCA	Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu « Allah » qui nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience pour accomplir ce modeste travail.

Il ne nous serait pas possible de présenter ce mémoire sans témoigner de notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à Monsieur **AZZI Rachid** d'avoir accepté de nous encadrer, pour sa confiance, son attention, ses conseils et ses précieuses orientations.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Madame **MEDJDOUB Houria**, maitre de conférences classe B, pour avoir faire l'honneur de présider ce jury.

Notre sincère gratitude va à **BOUALI Waffa**, maitre de conférences classe A pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos profonds remerciements s'adressent également à la doctorante **Abbou Fayza** pour son aide et ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

C'est un grand merci que nous adressons aux personnels du laboratoire de Biochimie pour leur assistance leur sympathie leur gentillesse et leur patience.

Nous remercions également l'ensemble du personnel ainsi que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents, qu'ALLAH les protège

A mes sœurs fatima et Ahlem

A mes frères Ibrahim et Amine

A tous les membres de ma famille, petits et grands,

Notamment mon oncle

A toute mes amies, Narimene, Chimaa

Ma collègue fatima

A tous ceux qui m'ont donné la force pour continuer....

Sara

Dédicace

Je dédie ce travail aux personnes les plus chères aux mon coeur :

A ma chère mère

A la lumière de ma vie à celle qui m'a encouragé durant toutes mes études et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu.

A mon cher père

A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions.

A ma seule sœur Leila et son mari et ses enfants Hadjer, Ali et Adem.

A mes chers frères : Mohamed et Abdelwehed.

A mes chères amies : Noria, Narimene, Selma, Amel, Sarah, Sabah

A ma binôme Sara aux bons moments que nous avons passé.

A toutes les personnes que j'aime.

Parfois les mots sont insuffisants pour exprimer tous les sentiments.

Merci à vous.

Fatima Zohra

Table de matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste d'abréviations

Introduction	01
Synthèse bibliographique	
Chapitre 01 : les radicaux libres, stress oxydant et antioxydants	
1. Les radicaux libres	03
1.1 Définition	03
1.2 Production des radicaux libres	03
1.2.1 Production endogène	03
1.2.2 Production exogène	04
2. Stress oxydant	05
2.1 Définition	05
2.2 Conséquences du stress oxydant.....	05
2.2.1 Action sur l'ADN.....	05
2.2.2 Action sur les protéines	06
2.2.3 Action sur les lipides	06
2.2.4 Action sur les carbohydrates.....	07
2.3 Pathologie lié au stress oxydant	07
3. Les antioxydants	07
3.1 Définition	07
3.2 Rôles des antioxydants	08
3.3 Type antioxydant	08
3.3.1 les antioxydants enzymatiques	09
3.3.2 les antioxydants non enzymatiques	10
Chapitre 02 : Présentation de la plante <i>Origanum majorana</i>	
1. Historique d' <i>Origanum majorana</i>	15
2. Noms vernaculaires	15
3. Description botanique.....	15
4. Position systématique	16

5. Répartition géographique	17
6. Composition chimique	17
7. Utilisation traditionnelles	19
8. Activités biologique	19
8.1 Activité antioxydants	19
8.2 Activité antibactérienne	20
8.3 Activité antifongique	20
8.4 Activité antidiabétique.....	20
8.5 Activité antistress	20
8.6 Activité antimutagène	20
8.7 Activités anticonvulsivante	21
8.8 Activités antispasmodique	21

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	22
2. Préparation de la plante	22
3. Préparation des extraits bruts aqueux.....	23
4. Rendement d'extraction	23
5. Screening phytochimique	24
6. Analyse quantitative des composés phénoliques	25
6.1 Dosages des polyphénols totaux	25
6.2 Dosages des flavonoïdes	26
7. Evaluation de l'activité antiradicalaire par DPPH.....	26
8. Analyse statistique	28

Résultats et discussion

1. Le rendement d'extraction des extraits bruts	29
2. Screening phytochimique	30
3. Dosages des polyphénols totaux	31
4. Dosages des flavonoïdes totaux.....	32
5. Evaluation d'activités antiradicalaires par DPPH.....	36

Conclusion

Références bibliographique

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition chimique de la poudre de marjolaine (100g).....	18
Tableau 02 : Principaux phytoconstituants représentées dans l'huile essentielle (H.E) d' <i>Origanum majorana</i> L. (300g des parties aériennes fraîche de marjolaine donne 1,72% H.E analysé par CG./SM).....	18
Tableau 03 : La plante étudiée et la date de récolte.....	22
Tableau 04 : Les poids des différents extraits.....	29
Tableau 05 : Criblage phytochimique d' <i>O.majorana</i>	30
Tableau 07 . Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits aqueux.....	33
Tableau 08 : Valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits bruts aqueux de la marjolaine et de l'acide ascorbique	36

Liste des figures

Figure 01: Origine des radicaux libres et leurs effets sur l'organisme	04
Figure 02: Mécanismes provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule.....	05
Figure 03: Les différentes étapes de la peroxydation lipidique.....	06
Figure 04: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défense antioxydants.....	08
Figure 05: Squelette de base des coumarines.....	12
Figure 06: Squelette général des flavonoïdes.....	12
Figure 07: Structure de deux unités de base des tanins hydrolysables.....	13
Figure 08: Structure de deux unités de base des tanins condensés.....	14
Figure 09: Différentes parties aériennes d' <i>Origanum majorana</i> L.....	16
Figure 10: Aire de distribution du genre <i>Origanum</i>	17
Figure 11 : La partie aérienne de la plante (photo personnelle)....	22
Figure 12 : Effet de réduction d'antioxydant (AH) par DPPH.....	27
Figure 13 : Rendement des trois extraits de la plante <i>Origanum majorana</i>	29
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	31
Figure 15 : Taux des polyphénols totaux d' <i>O.majorana</i>	32
Figure 16: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	32
Figure 17 : Taux de flavonoïdes d' <i>O.majorana</i>	33
Figure 18. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de décoction.....	34
Figure 19. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait de macération.....	35
Figure 20 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait d'infusion.....	35
Figure 21 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	36

Liste d'abréviations

ROS : Reactive oxygene species

RNS : Reactive nitrogene species

LDL : Low density lipoproteiens

OH° : Hydroxyles

CAT : Catalase

GR : Glutathion réductase

SOD : Superoxyde dismutase

GPx : Glutathion peroxydase

O²⁻ : Superoxyde

HE : Huiles essentielles

CG : Chromatographie en phase gazeuse

MS : Spectrométrie de masse

FVT : Flavonoïdes totaux

PPT : Polyphénols totaux

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

Mg EAG/g ES : Milligramme équivalente d'acide gallique par gramme d'extrait sec

Mg EC/g ES : Milligramme équivalente catéchine par gramme d'extrait sec

ARN : Acide ribonucléique

ADN : Acide désoxyribonucléique

P.c : Poids corporelles

ONOO- : Peroxinitrite anion

ملخص

البردقوش (*Origanum majorana*) هو نبات سنوي من عائلة النعناعيات يستخدم على نطاق واسع كنبات طبي ومكون توابل.

الهدف من هذا العمل هو المساهمة في دراسة الكيمياء النباتية ، وجرعة المركبات الفينولية والبحث عن النشاط المضاد للاكسدة (كشط الجذور الحرة DPPH) لمستخلصات البردقوش المائية الخام المحضرة عن طريق : النقع، التسريب، المغلي.

كشف الفحص الكيميائي النباتي للنبات عن وجود التربينويدات، التانينات الكاتشيكية، الفلافونيدات والصابونين والكينونات الحرة وعدم وجود التانينات الغالية والالكالويدات. أظهر الفحص الكمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد الكلي للمستخلصات أن المستخلص المحضر بالتسريب سجل أعلى المستويات ($0,36 \pm 1,688$ ميليغرام مكافئ لحمض القاليك/غ و $0,02 \pm 0,69$ ميليغرام مكافئ للكاتيشين/غ على التوالي) مقارنة بالمستخلصات الأخرى. بالإضافة إلى ذلك ، قدم المستخلص المحضر عن طريق مغلي البردقوش أعلى نشاط مضاد للجراثيم مع IC_{50} بترتيب $0,006 \pm 0,147$ ميليغرام/مل مقارنة بالمستخلصات الأخرى. يظل هذا النشاط ضعيفاً مقارنةً بحمض الأسكوربيك.

الكلمات المفتاحية: البردقوش (*Origanum majorana*)، دراسة كيميائية نباتية ، بوليفينول كلي ، فلافونويد كلي ، نشاط مضاد للاكسدة (DPPH).

Résumé

L'*Origanum majorana* est une plante annuelle de la famille des Lamiacées. Elle est largement utilisée comme plante médicinale et ingrédient d'assaisonnement.

L'intérêt de ce travail est de contribuer à l'étude phytochimique, le dosage des composés phénolique et la recherche de l'activité antiradicalaire (piégeage des radicaux libres DPPH) des extraits bruts aqueux de la marjolaine préparés par infusion, macération et décoction.

Le screening phytochimique de la plante a révélé la présence des Terpénoïdes, Tanins catéchiques, Flavonoïdes, Saponines, quinones libres et l'absence des tanins galliques et des alcaloïdes. Le dosage quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des extraits a démontré que l'extrait préparé par infusion a enregistré la teneur la plus élevée ($1,688 \pm 0,36$ mg EAG/g ES et $0,69 \pm 0,02$ mg EC/g ES, respectivement) par rapport aux autres extraits. Par ailleurs, l'extrait préparé par décoction de la marjolaine a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée avec une CI_{50} de l'ordre de $0,147 \pm 0,006$ mg/ml par rapport aux autres extraits. Cette activité reste faible par rapport à celle de l'acide ascorbique.

Mots clés : *Origanum majorana*, étude phytochimique, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, activité antiradicalaire (DPPH).

Abstract

Origanum majorana is an annual plant of the Lamiaceae family. It is widely used as a medicinal plant and as a seasoning ingredient.

The interest of this work is to contribute to the phytochemical study, the determination of phenolic compounds and the research of the antiradical activity (DPPH free radical scavenging) of aqueous crude extracts of marjoram prepared by infusion, maceration and decoction.

The phytochemical screening of the plant revealed the presence of Terpenoids, Catechic tannins, Flavonoids, Saponins, free quinones and the absence of gall tannins and alkaloids. The quantitative determination of total polyphenols and total flavonoids of the extracts showed that the extract prepared by infusion recorded the highest content (1.688 ± 0.36 mg EAG/g DM and 0.69 ± 0.02 mg EC/g DM, respectively) compared to the other extracts. On the other hand, the extract prepared by decoction of marjoram showed the highest antiradical activity with an IC_{50} in the range of 0.147 ± 0.006 mg/ml compared to the other extracts. This activity remains low compared to that of ascorbic acid.

Key words: *Origanum majorana*, phytochemical study, total polyphenols, total flavonoids, antiradical activity (DPPH).

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise diverses plantes trouvées dans son environnement, pour traiter et soigner traditionnellement les maladies (**Sanago, 2006**).

Une plante médicinale (PM) désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des substances appelées principes actifs, pouvant être utilisées soit pour la prévention, soit pour le traitement curatif de plusieurs maladies (**Didier et al., 2011**). Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 65-80% de la population mondiale dans les pays en développement dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**OMS, 2002**).

Le monde scientifique est envahi par un nouveau concept, celui du stress oxydant qui est impliqué dans de très nombreuses maladies telle que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et le cancer (**Pincemail et al., 2003**).

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversant parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leur capacités antioxydants (**Favier, 2006**).

Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence et d'autres composés appelés métabolites secondaires. Ces derniers jouent un rôle primordial dans la lutte contre diverses maladies (**Cox et Balick, 1994; Junio et al., 2011**).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve l'espèce *Origanum majorana*. C'est une plante annuelle de la famille des Lamiacées, largement distribuée dans plusieurs pays méditerranéens depuis l'Antiquité, mais devenue populaire au Moyen Age comme plante médicinale et ingrédient d'assaisonnement (**Wang et al., 2021**).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées à l'étude phytochimique (tests phytochimiques et dosage des composés phénoliques) et l'évaluation d'effet antiradicalaire (piégeage du radical DPPH), des extraits bruts aqueux de la partie arienne d'*Origanum majorana*.

Introduction

Ce travail est subdivisé en deux parties. Dans la première partie nous proposerons une étude bibliographique. Cette dernière est divisée en deux chapitres ; Le premier englobe quelques définitions sur les radicaux libres, le stress oxydant et les antioxydants et le deuxième chapitre est consacré à une présentation de la plante *d'Origanum majorana*.

Dans la seconde partie nous décrirons l'étude expérimentale qui comprend deux chapitres dont le premier chapitre illustre le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes manipulations : l'extraction, dosage des composés phénoliques et évaluation de l'activité antioxydante suivi par d'une partie résultats et discussion qui est consacré à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus.

Le manuscrit est ponctué d'une conclusion générale et des perspectives.

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Les radicaux libres, stress oxydant et les antioxydants

Chapitre 1

1. Les radicaux libres

1.1. Définition

Les radicaux libres sont des espèces chimiques atomiques ou moléculaires instables, qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés dans la couche de valence et connues par sa grande réactivité avec une durée de vie courte (10^{-3} à 10^{-6} second) (Azouaou, 2018).

Les radicaux libres dérivés de l'oxygène ROS (le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), superoxydes $O_2^{\cdot-}$ et hydroxyles $\cdot OH$) et de l'azote RNS (dérivés de NO), constituent la classe la plus importantes d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivantes. Ces composés aux doses excessives sont responsables d'une manière directe ou indirecte de nombreux dommages oxydatifs au niveau moléculaire (Acide nucléique, protéines, lipides), pouvant affecter considérablement les mécanismes cellulaires. Aux doses faibles, les espèces réactives de l'oxygène sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tels que la transduction du signal (Mezziti, 2001 ; Rochette et al., 2013).

1.2. Production des radicaux libres

La production de ces espèces oxydantes (prooxydants) est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. Ils sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. On distingue deux types de production des prooxydants:

1.2.1. Production endogène:

Les ERO peuvent apparaître au cours de six types des réactions biochimiques (Chaouche, 2014)

- La respiration : Au niveau des mitochondries, au cours du transfert d'électron dans la chaîne respiratoire, le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est produit.
- Les cellules immunitaires possèdent une enzyme membranaire, la NADPH oxydase, qui est spécialisée dans la fabrication du radical superoxyde.
- La xanthine oxydase est une enzyme ubiquitaire impliquée dans le catabolisme de l'ATP. Elle est impliquée dans la production du radical superoxyde.
- Les ions métalliques sont de remarquables promoteurs de processus radicalaires. Ils transforment H_2O_2 en radical hydroxyle ($\cdot OH$).
- Des radicaux libres sont produits au cours de la biosynthèse des prostaglandines.

- Des cellules sont capables de produire du monoxyde d'azote (NO^\bullet), à partir de l'arginine et l'oxygène, dans une réaction catalysée par la NO-synthase.

1.2.2. Production exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de la création et de l'accumulation des radicaux libres (William, 2013), parmi eux:

- L'exposition aux rayons UV, aux ultrasons, aux micro-ondes et à des champs magnétiques ;
- L'exposition aux métaux lourds ;
- Le contact avec des agents cancérigènes ;
- Le tabagisme et l'alcool ;
- La prise de médicaments et de la pilule contraceptive ;
- La pollution.

La **figure 01** présente les différents radicaux libres et leurs effets sur l'organisme

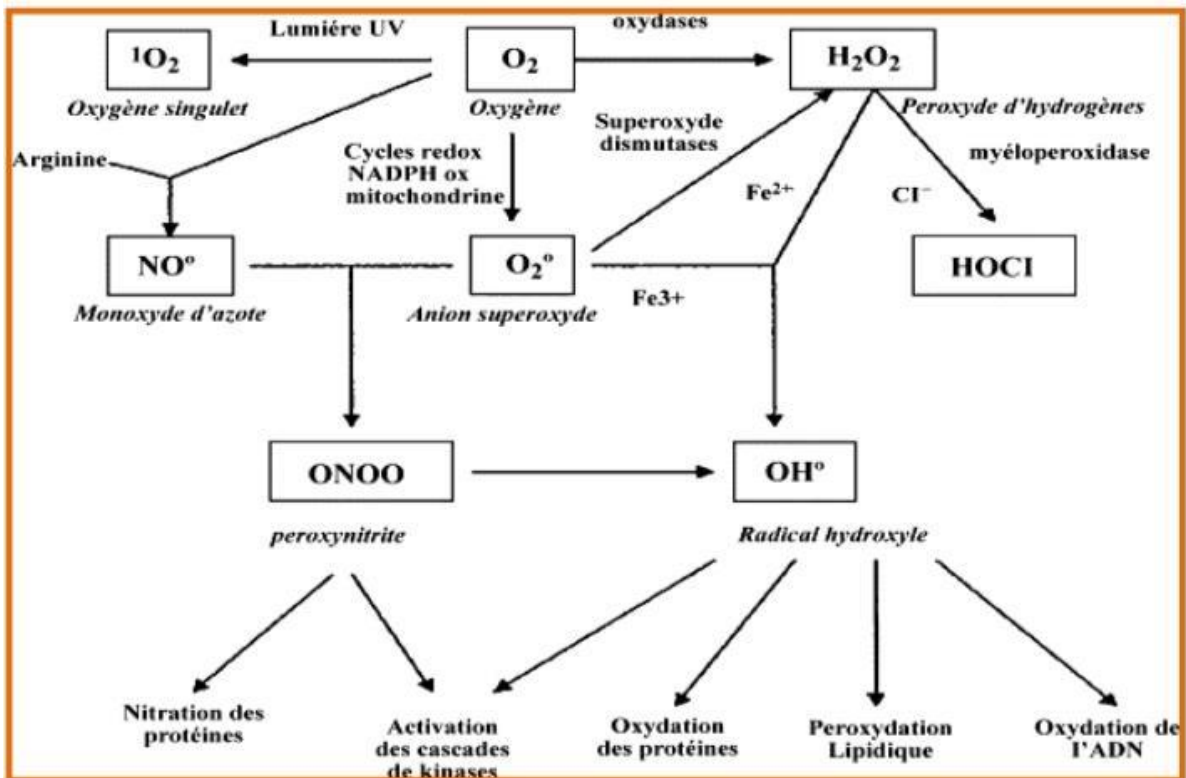


Figure 01: Origine des radicaux libres et leurs effets sur l'organisme (Favier, 2003).

2. Stress oxydant

2.1. Définition

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre de la balance pro oxydants/antioxydants en faveur des premiers qui conduisant à des dommages oxydatifs des bio molécules (**Figure 02**) (**Helmut Sies, 1985**).

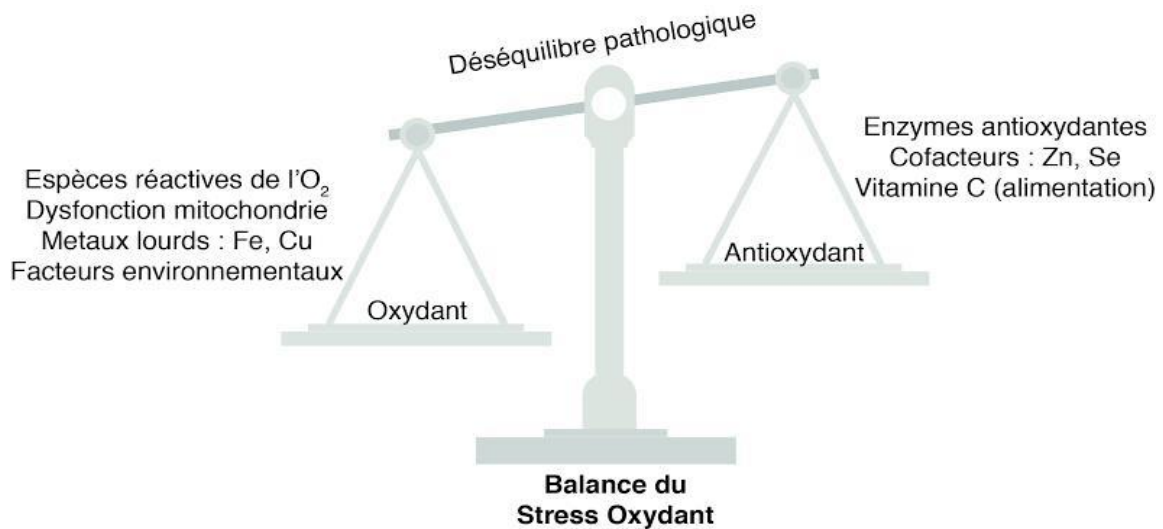


Figure 02: Mécanismes provoquant un stress oxydant au sein d'une cellule (**Hamraoui et Benkherouf, 2018**).

2.2. Conséquences du stress oxydant

Les radicaux libres attaquent multiples cibles dans l'organisme comme l'ADN, les protéines, les lipides et les carbohydrates.

2.2.1. Action sur l'ADN :

Les ERO, et spécifiquement le radical hydroxyle, peuvent attaquer l'ADN. Ils peuvent provoquer des modifications de ces bases, des cassures, des mutations ou endommager le processus de réparation de l'ADN. La guanine est la base la plus touchée, elle peut réagir avec le radical hydroxyle $\bullet\text{OH}$ pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguano-sine (8-OH-dG), au lieu de s'apparier avec la cytosine. La 8-OH-dG s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN. Ces modifications peuvent être à l'origine des phénomènes mutagènes ou d'un vieillissement (**Borrego et al., 2013**).

2.2.2. Action sur les protéines :

Les protéines sont susceptibles d'être oxydées par les radicaux libres dérivés de l'oxygène ROS. Les acides aminés les plus réactifs à ces oxydations sont les acides aminés soufrés, basiques et aromatiques.

Les radicaux libres peuvent causer des dommages protéiques comme les changements de conformation des protéines et l'oxydation des chaînes latérales d'acides aminés. Ces changements conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeurs (inhibition des activités enzymatiques, l'augmentation ou la diminution de l'absorption cellulaire...) (Shacter, 2000, Kuka et al., 2012).

Ces protéines deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome (Jung et al., 2007).

2.2.3. Action sur les lipides

Le stress oxydant cause la peroxydation lipidique dans les membranes cellulaires, lorsque les radicaux libres réagissent avec les constituants membranaires essentiellement avec les LDL et les acides gras polyinsaturés AGPI. Les interactions entre les ERO et les lipides se déroulent en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (Figure 03) (Ahmed et al., 2013).

La peroxydation des lipides est la cause des troubles inflammatoires et métaboliques, la destruction des lipides membranaires, la formation et la propagation des radicaux lipidiques avec de nombreuses effets délétères (Zhao et al., 2013).

Lors de la peroxydation lipidique, les produits formés sont : l'isoprostane, les acides thiobarbituriques (TBARS), le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE).

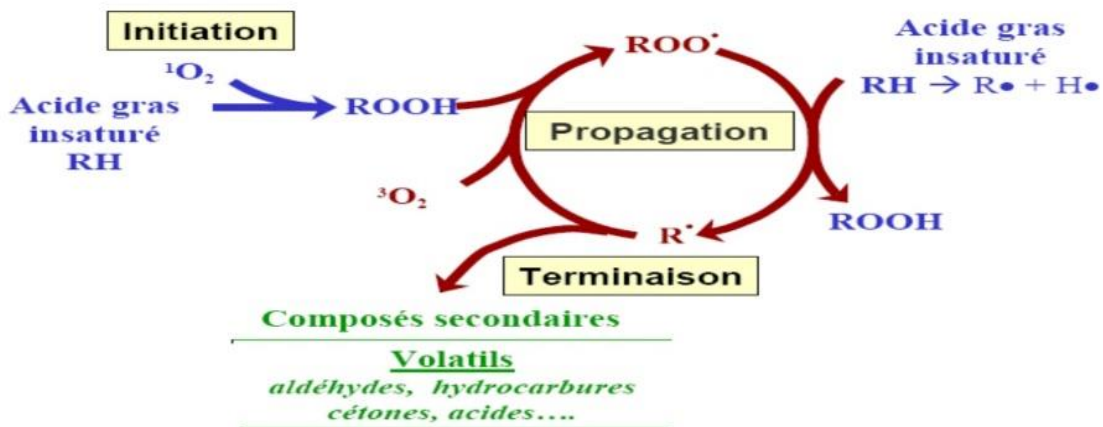


Figure 03: Les différentes étapes de la peroxydation lipidique (Spiteller, 1998).

2.2.4. Action sur les carbohydrates :

Les radicaux libres tels que $\cdot\text{OH}$ réagissent avec les carbohydrates par une abstraction d'un atome d'hydrogène, d'un des atomes de carbone, pour produire un radical centré de carbone. Cela conduit à une fragmentation des polymères de glucides comme l'acide hyaluronique (Devasagayam et al., 2004).

2.3. Pathologie liée au stress oxydant

De nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes (Pincemail et al., 2002). Le vieillissement favorise le stress oxydant en diminuant les défenses antioxydantes et en augmentant la production mitochondriale des EOR.

Les désordres biochimiques causés par le stress oxydant impliquent celui-ci dans de très nombreuses maladies comme :

- Maladies neurodégénératives : Alzheimer (Hwang, 2013), Parkinson (Pizza et al., 2013), épilepsie (Cardenas-Rodriguez, 2013).
- Maladies du foie: fibrose, cirrhose, carcinome hépatocellulaire (Shin et al., 2013).
- Maladies cardiovasculaires: Athérosclérose, hypertension (De Marchi et al., 2013).
- Maladies respiratoires: bronchospasme aigue, asthme (Kusano et Ferrari, 2008).
- Maladies auto-immunes : arthrite rhumatoïde (Subedi et al., 2012).
- Maladies de l'œil: cataracte (Chakraborty et al., 2007).
- Diabète sucré (Mima, 2013).
- Cancer (Kaushal et kudva, 2013).

3. Les antioxydants

3.1. Définition

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat, par conséquent, les antioxydants suppriment les dommages oxydatifs d'une molécule cible (Pastre et al., 2007).

3.2. Rôles des antioxydants

Les antioxydants exercent de nombreux effets sur l'organisme :

- ✓ Ils inhibent ou piègent les radicaux libres en les convertissant en composés chimiques nouveaux et stables ;
- ✓ Ils Fournissent un excellent soutien au système immunitaire de l'organisme, ce qui en fait un moyen efficace de prévenir les maladies ;
- ✓ Ils Favorisent la croissance des cellules saines ;
- ✓ Ils aident à combattre la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA).
- ✓ Ils protègent les cellules contre le vieillissement prématuré et anormal (**Lecerf et al, 2009 ; Shivam, 2019**).

3.3. Type des antioxydants

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour maintenir un niveau non cytotoxique des EOR. Le système de défense antioxydants peuvent être classés en deux catégories: les antioxydants enzymatiques directement synthétisés par l'organisme et les antioxydants non enzymatique apportés par l'alimentation sous forme des fruits et légumes riches en vitamines C, E, les caroténoïdes et les polyphénols (**Figure 04**) (**Halange et al., 2007**).

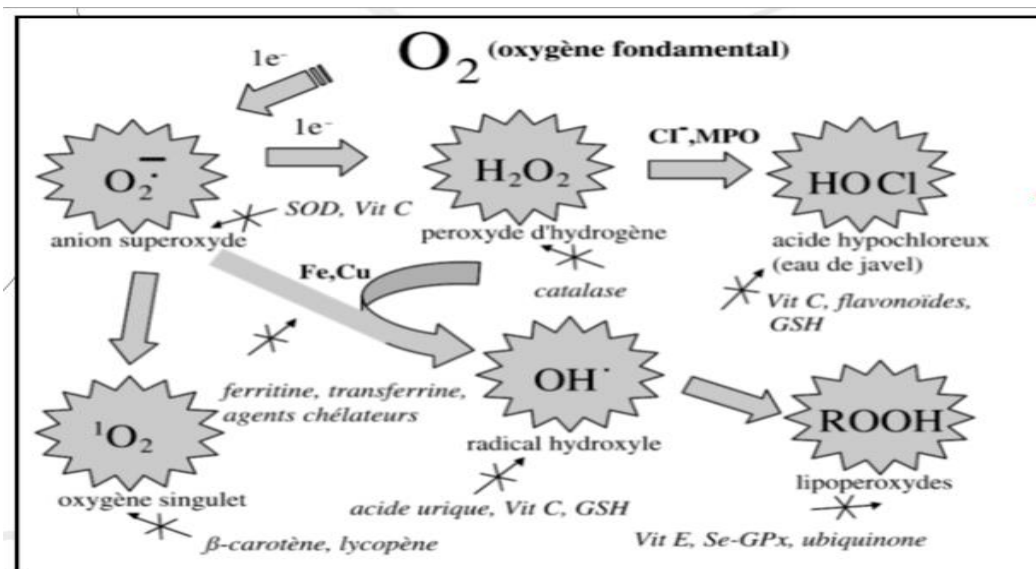


Figure 04: Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défense antioxydants (**Hamma et al., 2015**).

3.3.1. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la 1^{ère} ligne de défense contre les radicaux libres, principalement représentée par:

a. La catalase (CAT)

La catalase est une enzyme tétramérique de 59 KDa intracellulaire, localisée principalement dans les peroxysomes et les hématies. Elle catalyse la réaction de détoxification du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**R1**) (**Louis, 2011**).

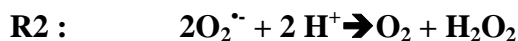
CAT



b. La superoxyde dismutase (SOD)

Il existe trois types des isoformes de superoxyde dismutase qui se différencient par leurs localisations cellulaires et leurs cofacteurs métalliques: une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). Leurs principales fonctions consistent à catalyser la dismutation du radical anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène moins toxique et en oxygène moléculaire (**R2**) (**Garait, 2006**).

SOD



c. La glutathion peroxydase (GPx) et réductase GR

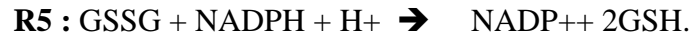
La glutathion-peroxydase séléno-dépendante est une protéine qui contiennent 4 atomes de sélénium situés aux centre actif de l'enzyme sous forme de sélénocystéine. La GPx est située dans le cytosol, les mitochondries et la circulation sanguine. Elle a pour activité la décomposition des peroxydes d'hydrogène (H₂O₂). Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG). (**R3 et R4**)(**Oueslati, 2017**).

GPx



La glutathion réductase (GR) est une enzyme qui catalyse la régénération du glutathion réduit (GSH) par le cofacteur NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons (**R5**) (**William, 2013**).

GR



A côté des 3 principales enzymes antioxydantes, on trouve d'autres enzymes dont le rôle est moins important, nous citons: Les peroxiredoxines (Prxs), les paraxonases, l'hème oxygénase-1 (HO-1), thioredoxin (Trx) (**Rezaire, 2012 ; Savini et al., 2013**).

3.3.2. Les antioxydants non enzymatiques

Notre régime alimentaire joue un grand rôle dans la lutte contre le stress oxydant. Les principaux antioxydants non-enzymatiques fournis par l'alimentation sont: la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes et les composés phénoliques.

a. La vitamine E

La vitamine E c'est un terme générique qui désigne de nombreux isomères de tocophérols et de tocotriénols ; le plus abondant c'est l' α -tocophérol. La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble et c'est un composé amphiphile capable de s'insérer dans les membranes cellulaires et peut ainsi séquestrer les radicaux en empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (**Blandine, 2006**). Elle joue aussi un rôle dans l'augmentation d'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT) (**William, 2013**).

b. La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est le plus important antioxydant de nature hydrosoluble, se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. C'est une molécule capable de réagir directement avec tous ROS/et ou RNS (majoritairement l' $\text{O}_2^{\cdot-}$ et le ONOO-) réduisant ainsi la peroxydation lipidique et les dommages aux protéines et à l'ADN. C'est est cofacteur de nombreuses enzymes. Elle participe, aussi, à la régénération de la vitamine E. La vitamine C est impliquée dans la synthèse du collagène, la synthèse du cholestérol et impliqué dans la transformation de la dopamine en noradrénaline (**Ge et al., 2008 ; Béguil, 2012**).

c. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles produites par les organismes photo-autotrophe et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles

(Aïra, 2012). Ils représentent la principale source alimentaire de rétinol. En plus de leur activité de provitamine A (convertis en vitamine A dans le corps). Les caroténoïdes, plus particulièrement le β -carotène, sont des désactivant efficaces de l'oxygène singulet. De plus, ils réagissent rapidement avec les radicaux hydroxyles $\text{OH}\cdot$ et les radicaux peroxydes. Ils inhibent, donc, les chaînes déperoxydation lipidique (El Oualja, 1994).

d. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent une classe de métabolites secondaires très largement représentés dans le règne végétal et donc dans notre alimentation. Ils sont caractérisés par la présence d'un noyau benzénique portant un groupement hydroxyl OH. Ils présentent une activité antioxydante importante et sont naturellement capables de piéger l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ et le radical anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$. Ils sont capables d'interagir avec les métaux de transition pour catalyser la peroxydation lipidique, notamment avec le fer et le cuivre. Ils possèdent des propriétés protectrices envers certaines maladies dégénératives tels que les cancers et les maladies cardiovasculaires (Desmier, 2016).

Le terme « polyphénols » regroupe une vaste ensemble de plus de 8000 molécules, d'un point moléculaire d'environ 800 Daltons qui leur permettent de traverser la membrane cellulaire, ce qui permet à ces polyphénols d'atteindre ou de gagner de l'espace dans les sites intracellulaires en tant que pigments ou produits phytochimiques. Ils sont divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tout un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (Hannebelle *et al.*, 2004 ; Prabhu *et al.*, 2021).

Ces composés organiques sont principalement présents dans les fruits secs, les légumes, le thé vert et les céréales complètes, les herbes et les épices (Rajeev *et al.*, 2019).

La classification des composés phénoliques est basée essentiellement sur la structure chimique et selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Ils sont répartis en deux classes, la classe des composés phénoliques simples comme les acides phénoliques et la classe des polyphénols tels que les flavonoïdes, les coumarines et les tanins (Achat, 2013, Laguna, 2019).

➤ Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont présents dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, ils sont représentés par deux sous-groupes : (**Zeghad, 2018**)

- les acides hydroxybenzoïques.
- les acides hydroxycinnamiques (**Djennidi, 2019**)

➤ Coumarines

Les coumarines qui sont les dérivés de C₆-C₃. Ce sont des composés aromatiques naturels, portant un groupement benzo-pyrone dans leur structure (**figure05**). La nomenclature internationale est le 2H-benzopyran-2-one, qui peut être considérée en première approximation comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique (**Dridi, 2013**).

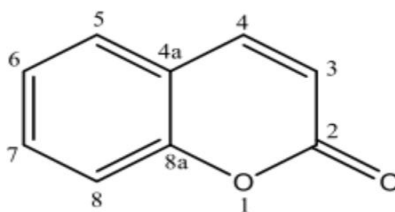


Figure 05: Squelette de base des coumarines (**Mekhelfi, 2016**)

➤ Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus vaste des polyphénols et le plus largement distribué dans le règne végétal. Ces molécules sont reconnues pour leurs multiples activités biologiques. La structure de base de ces composés regroupe un grand nombre de molécules. Elle est constituée d'un squelette carboné à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆) de type phényl-2-benzopyrane. Ils se caractérisent par 3 cycles, A, B, C, deux noyaux benzéniques (A et B) sont reliés par une chaîne linéaire de 3 atomes de carbone, formant en général un hétérocycle pyranique après condensation avec un OH phénolique du noyau A (**Figure 06**) (**Saidi, 2019 ; Abcha, 2020**).

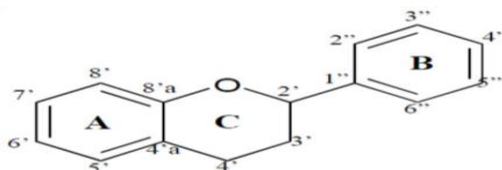


Figure 06 : Squelette général des flavonoïdes (**Michel, 2012**)

De façon générale, les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, ou ils existent sous forme de C- ou O-glycosides (**Rachad, 2018**). Ils sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones, et les anthodcyanidines(**Nassar, 2017**).

➤ Tanins

Les tanins sont des oligomères hydrosolubles, riches en groupes phénoliques, capables de se lier ou de précipiter des protéines solubles dans l'eau. Les tanins, communs aux plantes vasculaires, existent principalement dans les tissus ligneux, mais peuvent également être dans les feuilles, les fleurs ou les graines. Ils sont utilisés spécialement pour tanner les peaux (**Kone, 2018**).

Selon leurs structures chimiques, on distingue deux groupes de tannins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Ghnimi, 2015**).

Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables ont une structure de polyester. Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère des acides digallique, acide ellagique et de monosaccharides, le plus souvent le glucose (**Figure 07**). Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables par les enzymes (tannase) (**Richardin et al., 2015, Rira, 2019**).

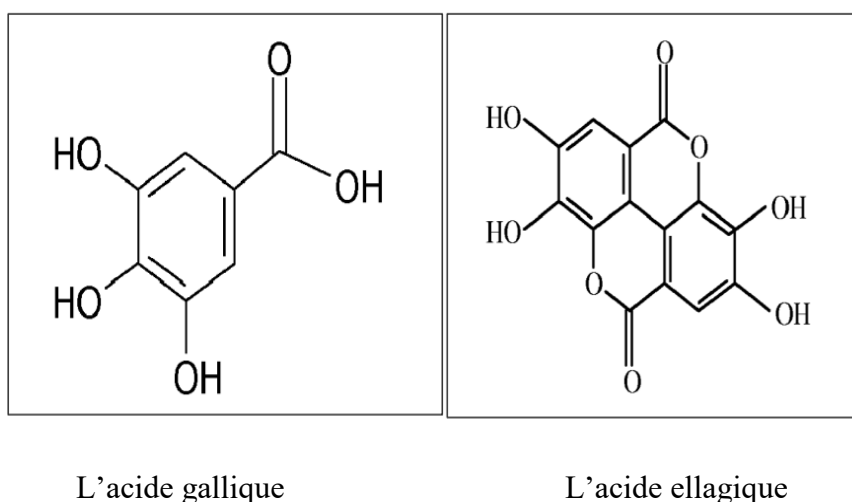


Figure 07 : Structure de deux unités de base des tanins hydrolysables (**Nassar, 2017**)

Les tanins condensés

Les tanins condensés, appelés proanthocyanidines ou procyanidines. Ces composés possèdent comme structure de base le flavan-3-ol ou le flavan-3,4-diol. Ces unités sont liées entre elle majoritairement par les liaisons C₄-C₈ (parfois C₄-C₆) ou des liaisons carbone-oxygène. Les unités flavan-3-ols les plus courantes trouvées dans les tanins condensés comprennent la catéchine, l'épicatéchine, la gallocatéchine et l'épigallocatéchine (Donatine, 2009 ; Naumann, 2017).

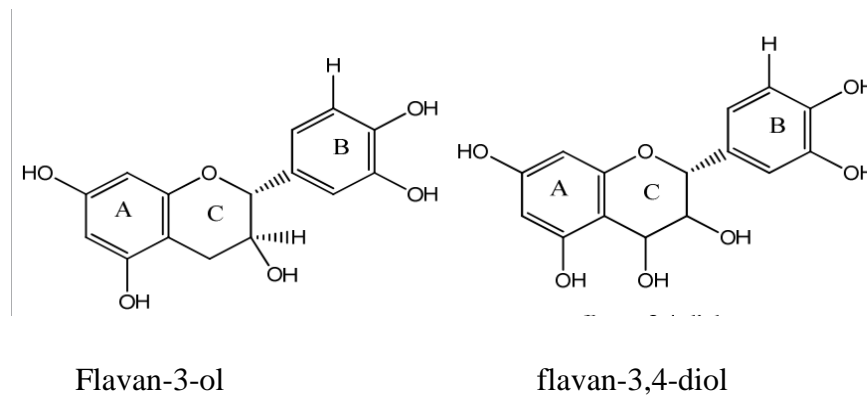


Figure 08 : Structure de deux unités de base des tanins condensés (Ghnimi, 2015)



Chapitre 2

1. Historique d'*Origanum majorana*

La marjolaine ou Origan des jardins (*Origanum majorana*) est une plante annuelle aromatique de la famille des Lamiacées. Dans l'Antiquité, les anciens Grecs employaient la marjolaine comme épice, grâce à son odeur un peu fumée et sa saveur piquante la rendent exquise dans les salades et dans tous les plats cuits. La marjolaine est un condiment courant en Italie en Espagne, Chypre et en Turquie (Couplan, 2015).

La marjolaine se caractérise aussi par ses propriétés médicinales. Dioscoride accordait à la marjolaine des vertus de contrepoison dans les cas des morsures ou de piqûres venimeuses. Pline l'Ancien la notait bonne à éloigner les serpents et à neutraliser les effets de l'opium. Pour Albert le Grand, la marjolaine est fortifiante et résolutive et elle est bénéfique contre toutes les maladies de poitrine qui entraînent de l'oppression (Rokosuieva, 2015).

2. Noms vernaculaires

Le terme « marjolaine » est apparu dans la langue en 1398. Il dériverait de l'ancien nom latin de la plante, amaracum, lui-même emprunté du grec “amarakos” un symbole d'amour, d'honneur et de bonheur (Larbi et Lakhdari, 2015)

La marjolaine reconnue par les noms suivants: (Azzi, 2013).

- Nom français : Marjolaine.
- Noms anglais: Marjoram, Sweet marjoram.
- Nom vernaculaire: Bardakouche.
- Nom scientifique : *Origanum majorana* L.

3. Description morphologique

La marjolaine est une plante herbacée vivace à tiges dressées, ramifiées, de hauteur de 20 à 30 cm. Ses feuilles opposées sont petites, ovales et cotonneuses et mesurent de 0,9 cm de larges. Inflorescences, très rameuses situés au sommet des tiges, poussant en grappes denses, pédonculées à l'aisselle des feuilles. Lors de la floraison, apparaissent de minuscules fleurs blanches ou légèrement rosées. Elle définit par un calice bilabié à lèvre supérieure orbiculaire

et à lèvre inférieure bidentée et constituée 4 étamines divergentes. Les fruits sont des tétrakènes (**Figure 09**) (Beloued, 1998).



Figure 09: Différentes parties aériennes d'*Origanum majorana* L(Prerna et al .,2015).

4. Position systématique (Mahfouf, 2018)

Règne : plante

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Série : Superovariées tétracycliques

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Sous-famille : Népétoïdées

Genre : *Origanum*

Espèce : *majorana*

Nom binomial : *O. majorana*

5. Répartition géographique

Le genre *Origanum majorana* est largement présent dans des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'Asie de l'Est. Ils s'étendent jusqu'aux régions sibériennes et irano-turques. Ils poussent sur des sols calcaires et rocailloux. La région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante. Cette espèce se développe aussi dans les zones internes semi arides de l'Est d'Algérie (**Figure 10**) (**Figueredo, 2007 ; Ben Salha, 2020**).

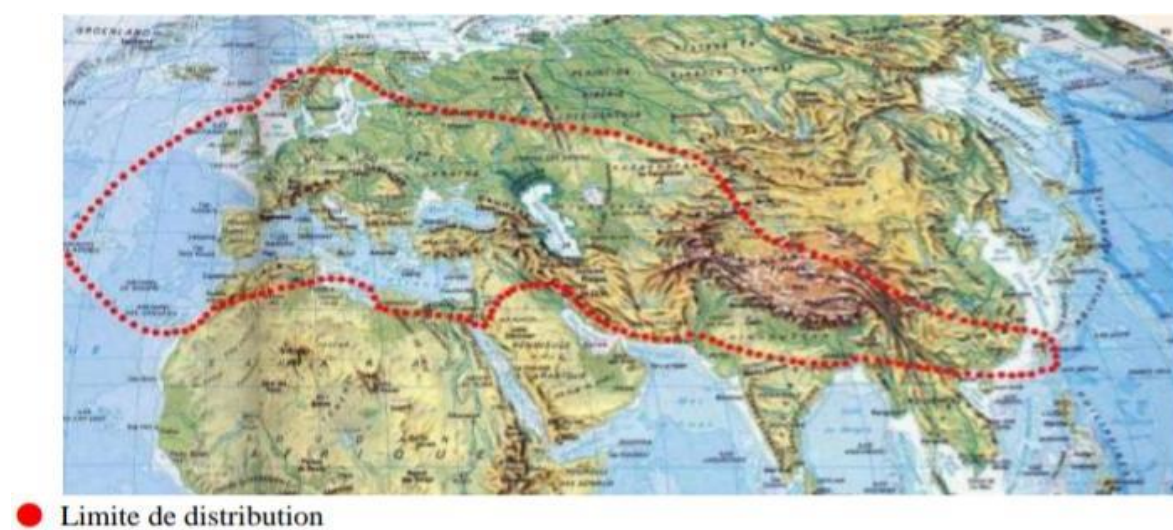


Figure 10: Aire de distribution du genre *Origanum* (**Cailaud, 2013**).

6. Composition chimique

Origanum majorana est connu comme l'une des plantes la plus utilisée dans le monde en raison de son importance biologique et de sa diversité de composition chimique.

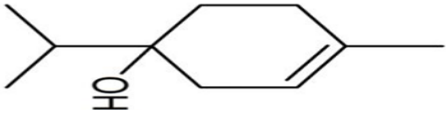
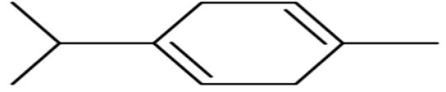
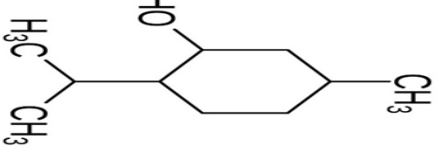
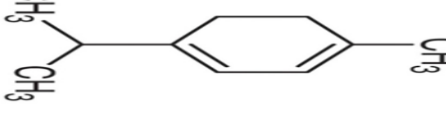

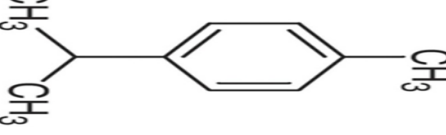
L'analyse de marjolaine à différents tests phytochimiques qualitatifs a montré la présence de flavonoïdes, de tanins, de glycosides, de glycosides cardiaques, de stérols, de terpénoïdes dans l'extrait éthanolique de feuilles, de racines et de tiges ; tandis que la saponine et le carbohydérium sont présents dans l'extrait aqueux (**Tripathy et al., 2017**).

Les tableaux 01 et 02 résument les différents constituants de la poudre et l'huile essentielle d'*Origanum majorana*.

Tableau 01: Composition chimique de la poudre de marjolaine (100g) (Hafez, 2012).

Constituants	Teneur %
Glucides	72,18
Fibres brutes	19,52
Protéines	12,80
Graisses	3,75
Humidité	5,66
Cendres	5,62

Tableau 02 : Principaux phytoconstituants représentés dans l'huile essentielle (H.E) d'*Origanum majorana* L. (300g des parties aériennes fraîche de marjolaine donne 1,72% H.E analysé par CG./SM)(Raouafi et al.,2021).

Composé	Teneur %	Formule brute	Formule semi- développée
Terpinène-4-ol	26,7	C ₁₀ H ₁₈ O	
Gammaterpinene	16,96	C ₁₀ H ₁₆	
p-menthol	11,85	C ₁₀ H ₂₀ O	
Alpha-terpinene	9,22	C ₁₀ H ₁₈ O	
Alpha-terpinéol	5,76	C ₁₀ H ₁₈ O	
p-cymene	5,27	C ₁₀ H ₁₄	

7. Utilisations traditionnelles

Origanum majorana L. est une plante très populaire. Elle possède des applications très vastes tant dans le domaine alimentaire que celui de la médecine traditionnelle en raison de ses multiples effets thérapeutiques (**Ghenima, 2016**).

Traditionnellement, différentes parties de la marjolaine comme les feuilles et les sommités fleuries fraîches ou séchées sont utilisées par voie orale (en tisane ou mastication). Elles sont principalement utilisées contre les infections respiratoires et intestinales, les douleurs gastriques, les troubles nerveux et les maladies cardiovasculaires. L'huile essentielle est employée contre la paralysie décroissante, en friction sur la nuque, le dos, douleurs et dureté de l'oreille et en massage contre les douleurs rhumatismales et les maux de dents (**Prerna et al., 2015**).

8. Activités biologiques

De nombreuses études expérimentales suggèrent que les composés phytochimiques, principalement les composés oxygénés de la marjolaine sont à l'origine de plusieurs activités biologiques (**Ben Salha et al., 2017**).

8.1. Activité antioxydante

De nombreuses études ont montré que la plante de marjolaine est riche en composés phénoliques. De ce fait, ses extraits possèdent une capacité de chélation des radicaux libres élevée et par conséquent une activité antioxydante importante (**Iratni, 2016**).

L'extrait d'acétate d'éthyle, l'extrait aqueux et l'huile essentielle de la partie aérienne d'*O. majorana* ont présenté une activité antioxydante importante. Les composés phénoliques tels que l'acide hydroxycinnamique, les flavonoïdes, l'acide ursolique, l'acide carnosique, le carnosol, l'acide rosmarinique et l'acide caféique sont responsables de cette activité (**Bina et Rahimi, 2017**). Il a été établi que l'extrait de marjolaine peut avoir une activité antioxydante dans les lipides. Les extraits de marjolaine sont aussi utilisés comme additifs pour prolonger la vie des produits de poisson durant la congélation et le stockage (**Ietswaart, 1980**).

8.2. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles (HE) dérivées des feuilles de marjolaine ont montré un effet antibactérien sur diverses bactéries (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase*, *Enterobacterspp. coagulase*, *Enterobacterspp.*, *Proteusspp*, *Acinetobacterspp.*, *Klebsiellaspp.* et *Pseudomonas spp.*) (Busatta et al., 2008, Freire, 2011).

De même, les extraits éthanoliques et aqueux de Marjolaine ont présenté une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram positives et Gram négatives. L'extrait éthanolique a eu un effet d'inhibition élevé contre les bactéries, comparable à celui de l'extrait aqueux (Mohamed, 2011).

8.3. Activité antifongique

L'huile essentielle a montré également une activité antifongique, notamment sur *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* (Freire, 2011 ; Sharma et al., 2011). Par ailleurs, l'extrait éthanolique et hexanique a exercé une activité inhibitrice sur six *Candida* sp (souches de levure) (Kazlowska et al., 2010).

8.4. Activité antidiabétique

L'extrait méthanolique des feuilles de marjolaine a montré des activités antidiabétiques chez les souris rendues diabétiques par la Streptozotocine par divers tests *in vitro* et *in vivo*. L'*Origanum majorana* a montré des effets significatifs sur l'inhibition *in vitro* de la formation avancée du produit final de glycation. L'effet était plus important que l'agent antiglycation standard, l'aminoguanidine (Tripathy et al., 2017).

8.5. Activité antistress (anti-anxiété)

L'extrait de feuilles d'*Origanum majorana* a montré un effet anti-anxiété sur des rats dans un modèle de labyrinthe ouvert à une dose intra-péritonéale de 200 mg/kg p.c. L'effet est dépendant et comparable au diazépam (Tripathy et al., 2017).

8.6. Activité antimutagène

L'extrait éthanolique des parties aériennes de la marjolaine a montré un effet antimutagène induit par le cyclophosphamide chez les souris à la dose efficace minimale de 125 mg/kg. L'effet de l'extrait de marjolaine a protégé toute modification des teneurs en ARN, ADN et protéines dans le foie et les testicules des souris par rapport au témoin (Vasudeva et Goel, 2015).

8.7. Activité anticonvulsivante :

Les extraits d'éther de pétrole, de chloroforme, d'acétone, de méthanol et aqueux de marjolaine ont montré un effet anticonvulsivant dans les modèles des crises induites par le test Pentylentetrazole (PTZ) et d'électrochoc maximal (ECM) chez les rats à des doses de 250 et 500 mg /kg p.c. Les extraits de marjolaine ont retardé l'apparition des crises (**Deshmane et al; 2007**).

8.8. Activité antispasmodique :

L'huile essentielle d'*Origanum majorana* est riche en terpinéol qui est obtenue par distillation de ses sommités fleuries et de ses feuilles. Elle est considérée comme un puissant antispasmodique, qui calme les spasmes et plus particulièrement ceux de l'estomac et du colon, son action laxative et digestive contribue au bien être digestif et intestinal (**Vagi, 2005**).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de biochimie, département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV – STU), Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen

1. Matériel végétal

La partie aérienne (tiges, feuilles) d'*Origanum majorana* (**Figure 11**) a été récoltée, en mai d'Avril 2022 dans la région de Ghazaouet, le village de Dar Bentata. Cette région est située au Nord-Ouest de la wilaya de Tlemcen. Elle délimitée par la mer Méditerrané au Nord, la commune de Yaghmoracen à l'Est, la commune de Souahlia à l'Ouest et la commune de Tient au Sud.



Figure 11 : La partie aérienne de la plante (originale).

2. Préparation de la plante

La partie aérienne de la marjolaine récoltée a été lavée puis séchée à température ambiante dans un endroit aéré, pendant 15 jours. Les feuilles et les tiges séchées ont été broyées à l'aide d'un moulin électrique et le broyat obtenu a été conservé dans un flacon à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.

3. Préparation des extraits bruts aqueux

L'extrait brut aqueux de cette plante a été préparé par trois méthodes d'extraction classique : l'infusion, la décoction et la macération.

3.1. Extraction par infusion

La méthode d'extraction aqueuse par infusion de la partie aériennes (feuilles et tiges) a été réalisée selon la méthode décrite par (Bohui et al., 2019). Une prise d'essai de 5g de poudre de la marjolaine a été introduite dans un ballon contenant 200 ml d'eau distillée bouillante. L'ensemble a été maintenu pendant 30 minutes jusqu'au refroidissement. Après filtration sur papier-filtre, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à des boîtes de pétri et introduit à l'étuve à 37°C pendant 4 jours. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

3.2. Extraction par macération

La méthode d'extraction aqueuse par macération de la partie aériennes (feuilles et tiges) a été réalisée selon la méthode décrite par (Bohui et al., 2019). Une prise d'essai de 5g de poudre de la marjolaine a été introduite dans un ballon contenant 200 ml d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu sous agitation magnétique pendant 10 minutes et a été laissé macérer à température ambiante pendant 24 heures. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 37°C pendant 4 jours. Les poudres obtenues de la marjolaine ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

3.3. Extraction par décoction

L'extraction a été faite par décoction sous reflux de 5g de poudre de la marjolaine mis en contact avec 200 ml l'eau distillée. Le mélange est porté à l'ébullition, à reflux, pendant 1 heure. Après filtration sur papier filtre, le filtrat obtenu a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 50°C. Les résidus de ce filtrat ont été séchés à l'étuve pendant 4 jours à 37 °C pour obtenir les extraits secs.

4. Rendement d'extraction

Le rendement de trois modes d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (Me / M\text{ ech}) \times 100$$

Où :

R (%) : rendement en %

Me : est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

M ech : la masse sèche de l'échantillon végétal en g

5. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un ensemble des tests qualitatifs basés sur des réactions de coloration et de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisée sur des extraits aqueux des feuilles et des tiges d'*Origanum majorana*. Ces tests nous permettent d'avoir une idée sur la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles des métabolites secondaires. Les molécules mises en évidence sont les polyphénols totaux (les tanins galliques et catéchiques, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones), les composés azotés (Alcaloïdes), les composés terpéniques (saponines, terpénoïdes) (**Bouchenak et al., 2020**).

5.1. Tanins

Nous avons introduit dans un tube à essai 1 ml d'extrait, puis nous avons ajouté 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée à 1%.

L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques.

L'apparition d'une coloration bleue-verte indique la présence des tanins galliques.

5.2. Flavonoïdes

Dans un tube à essai, mettre 1ml d'extrait à tester, ajouter 1ml d'acide chlorhydrique (HCl) et quelque copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune révèle la présence des flavonoïdes.

5.3. Qinones libres

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de l'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (1% NaOH). Le changement de couleur en jaune, rouge ou violet indique la présence de quinone libre.

5.4. Terpénoïdes

A 1 ml de l'extrait à analyser dans le tube à essai, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et la couleur brune de la phase médiane indique la présence des terpénoïdes.

5.5. Saponines

Test de mousse : Dans un tube à vis, introduire 15ml d'extraits et agité pendant quelque secondes puis laissé au repos pendant 15minutes. Une hauteur de mousse persistante indique la présence des saponines.

5.6. Alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner.

1ml de chaque extrait est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 0,5ml de réactif Mayer, l'autre par 0,5ml de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes

6. Analyse quantitative des composés phénoliques

6.1. Dosages des polyphénols totaux

✓ Principe.

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits aqueux de la marjolaine a été déterminée par le réactif de « Folin-Ciocalteu » de couleur jaune, qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Le principe de la méthode est fondé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif « Folin-Ciocalteu ». Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760nm (**Haddouchi et al., 2016**).

✓ Protocole

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon une méthode colorimétrique décrite par **Dewanto et al., (2002)**.

Une prise de 100 µl de chaque extrait aqueux de la marjolaine (250µg/ml) est mélangée avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2 % fraîchement préparée. Après incubation pendant 5 minutes à température ambiante, 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (2N) sont ajoutés au mélange. L'ensemble est agité par un vortex et laissé incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante.

La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde à 760 nm.

Une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 50 à 500 µg/ml. Les teneurs en polyphénols totaux des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

6.2. Dosages des flavonoïdes

✓ Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur l'oxydation des flavonoïdes par le nitrate de sodium (NaNO_2) et chlorure d'aluminium (AlCl_3). Ces réactifs, entraînent la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510nm (**Belmokhtar, 2015**).

✓ Protocole

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon une méthode colorimétrique décrite par **Zhishen et al., (1999)** avec une légère modification.

Un volume de 250 µl d'extrait brut aqueux de la marjolaine (500µg/ml) est mélangé avec 1ml d'eau distillée et 75µl d'une solution de nitrate de sodium NaNO_2 (15%). Après incubation pendant 6min à température ambiante, 75µl d'aluminium AlCl_3 (10%) est ajouté. Après 6 minutes, 1ml d'hydroxyde est ajouté. Le volume total est complété à 2,5ml d'eau distillée. Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510nm contre un blanc.

Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 50 à 500 µg/ml, permettront de tracer la courbe d'étalonnage. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de l'extrait sec (mg EC/g ES)

7. Evaluation de l'activité antiradicalaire par DPPH

7.1. Principe du test de DPPH

DPPH (2,2-Diphenyl-hydrazyl-1-picrylhydrazyl) est un radical azoté stable de couleur violette dont l'intensité est mesurée à 517 nm. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH par transfert hydrogène, passe à la forme réduit en formant le 2,2-diphényl-1-hydrazine (DPPH,H) de coloration jaune (**Figure 12**).Ce passage est accompagné une

diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction de DPPH (Addab *et al.*, 2020).

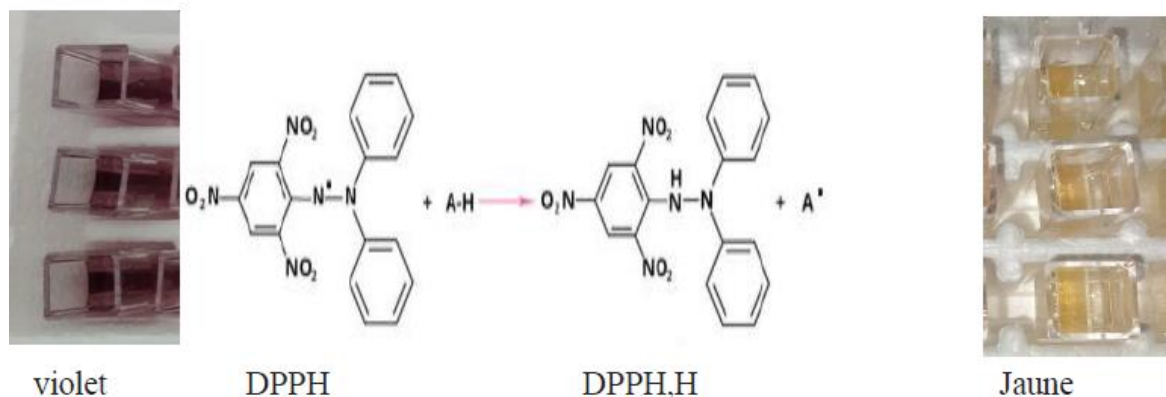


Figure 12 : Effet de réduction d'antioxydant (AH) par DPPH (Al-Kufaish *et al* 2020).

7.2. Protocole

Pratiquement, une solution de DPPH est préparée par solubilisation de 0,0025g de DPPH dans 100 ml de méthanol. La conservation de la solution s'est faite à l'abri de la lumière.

50 µl des solutions d'extraits d'extrait bruts aqueux de la marjolaine à différente concentration ont été ajoutés à 1950 µl DPPH.

Pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 µl de chaque concentration d'extrait et 1950 µl du méthanol.

Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950µl de la solution méthanolique de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

L'activité anti-radicalaire est déterminée selon l'équation suivante (Dieng *et al.*, 2017) :

$$PI = 100(A0-A1)/A0$$

Avec :

PI : Pourcentage d'inhibition

A0 : absorbance DPPH

A1 : absorbance échantillon

La CI_{50} (concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres) a été déterminée à partir la courbe de régression logarithmique des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations de la marjolaine testé. La valeur de la CI_{50} permet de déterminer l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en CI_{50} . Elle est exprimée en mg/ ml (3 répétitions pour chaque concentration).

L'acide ascorbique (vitamine C) est utilisé comme antioxydant de référence a été testé à des concentrations de 25 μ l à 250 μ l caractérise par un forte activité antioxydants (**Sène et al., 2014**).

8. Analyse statistique

Les différents dosages des composés phénoliques et les tests antiradicalaires ont été répétés 3fois et les résultats sont exprimés en moyennes \pm écart type.

Résultats et discussion

1. Le rendement d'extraction des extraits bruts

La préparation de l'extrait aqueux à partir des parties aériennes d'*Origanum majorana* a été réalisée par les méthodes suivantes : macération, infusion et décoction. Cette méthode permis d'obtenir le rendement en extrait sec. Les résultats sont résumés dans **le tableau 04 et figure13.**

Tableau 04 : Les poids des différents extraits.

Mode extraction	Décoction	Infusion	Macération
Poids (g)	1,224	1,045	0,829

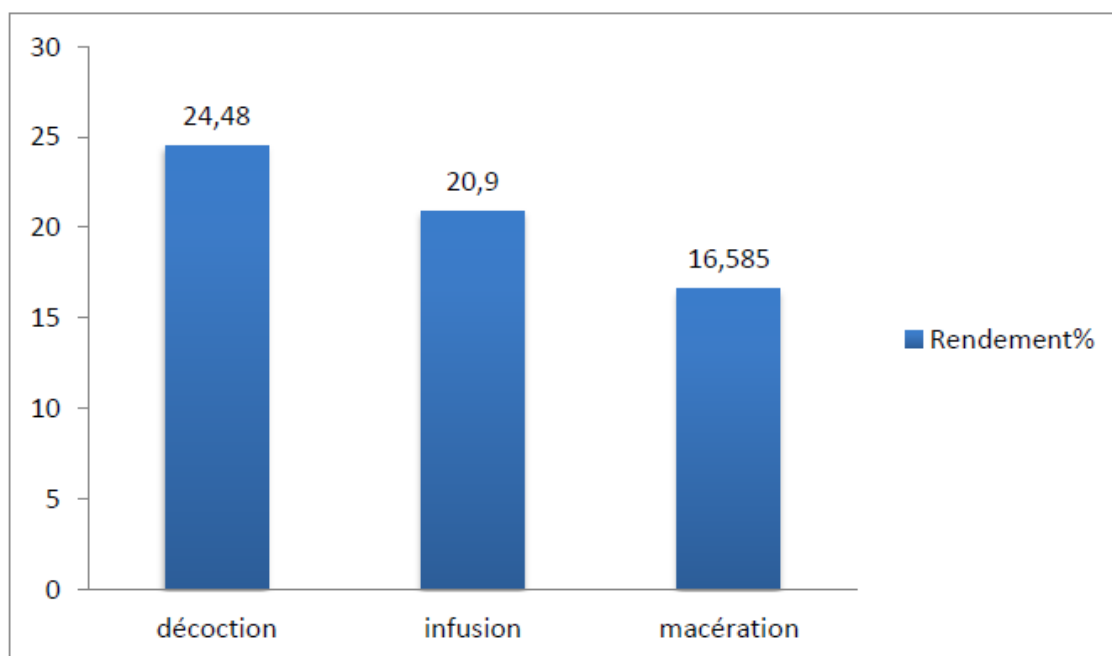


Figure 13 : Rendement des trois extraits de la plante *Origanum majorana*.

D'après les résultats obtenus, nous avons noté que la décoction a permis d'obtenir le meilleur rendement avec une valeur de 24,48 %, ensuite l'infusion avec un rendement de 20,9% et enfin la macération avec 16,585%.

Une étude sur l'espèce *Origanum majorana* réalisée par **Deuschle et collaborateurs (2018)**, montré que le rendement d'extraction par le solvants hydroéthanolique possède une valeur de 13,53%. Ces résultats sont inférieurs à celui obtenus dans notre étude.

2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques qui ont été réalisés sur la poudre végétale d'*Origanum majorana* ont permis de mettre en évidence la présence de certains groupes et l'absence d'autres métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 05: Criblage phytochimique d'*O. majorana*

Tests phytochimiques		Les résultats		
Métabolites secondaires	Réactifs	Macération	Infusion	Décoction
Alcaloïdes	Mayer	-	-	-
	Wagner	-	-	-
Flavonoïdes	Mg ⁺⁺	+	+	+
Tanins catéchiques	FeCl ₃ 1%	+	+	+
Tanins galliques	FeCl ₃ 1%	-	-	-
Terpénoïdes	Chloroforme+H ₂ SO ₄	+	+	+
Quinones	NaOH	+	+	+
Saponines	Test de mousse	+ (0,7mm)	+ (0,7mm)	+ (0,9mm)

Les résultats expérimentaux de tests phytochimiques (**tableau 05**) ont montré la présence de flavonoïdes, de tanins catéchiques, de saponines, de terpénoïdes et des quinones libres. Par contre ces résultats ont montré l'absence de tanins galliques et des alcaloïdes.

Ces résultats sont similaires à ceux publiés par **Vasudeva et Goel (2015)** et **Tripathy et al., (2017)** qui ont enregistré la présence et l'absence des mêmes groupes chimiques dans la plante étudiée. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de plante explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante en médecine traditionnelle par la population locale. Les flavonoïdes, les saponines et les tanins présentent des propriétés bénéfiques pour la santé notamment les propriétés antioxydante et anti inflammatoires (**Bouhaddouda et Labiod, 2016**).

3. Dosages des polyphénols totaux

La courbe d'étalonnage est élaborée par une solution standard de l'acide gallique à des concentrations différentes, cette courbe montre une linéarité de l'absorbance de l'acide gallique en fonction des concentrations (**Figure 14**).

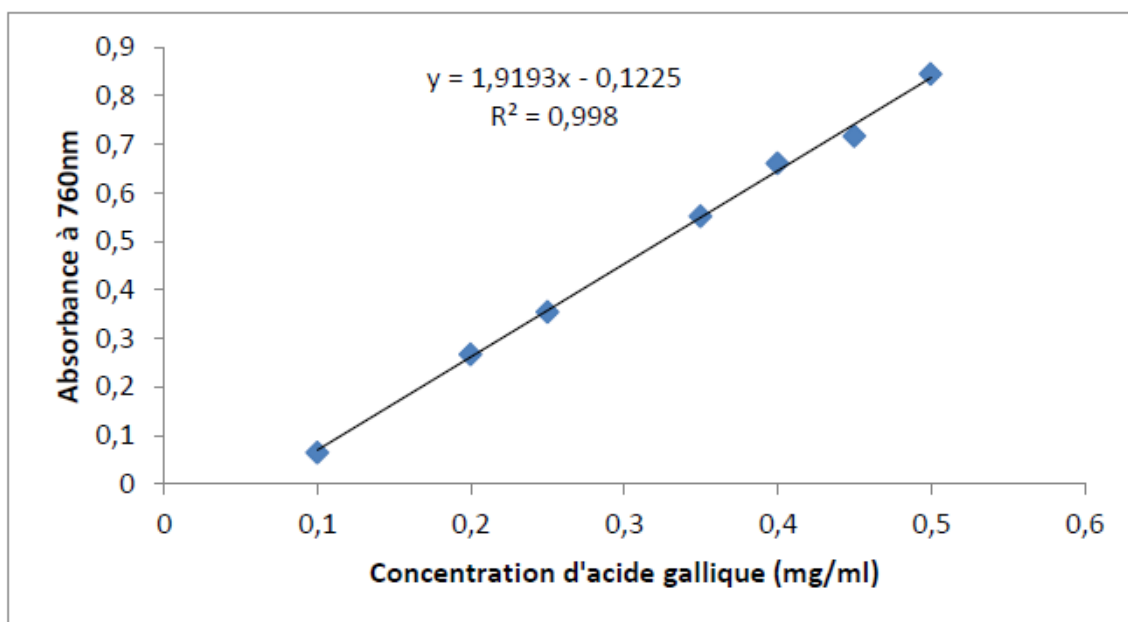


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les quantités en polyphénols totaux (PPT) ont été rapportées en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES). Elles sont déterminées par l'équation de type $y = 0,0019x - 0,1225$.

Les extraits aqueux de la marjolaine ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre, pour leurs teneurs des polyphénols en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont regroupés dans **figure 15**.

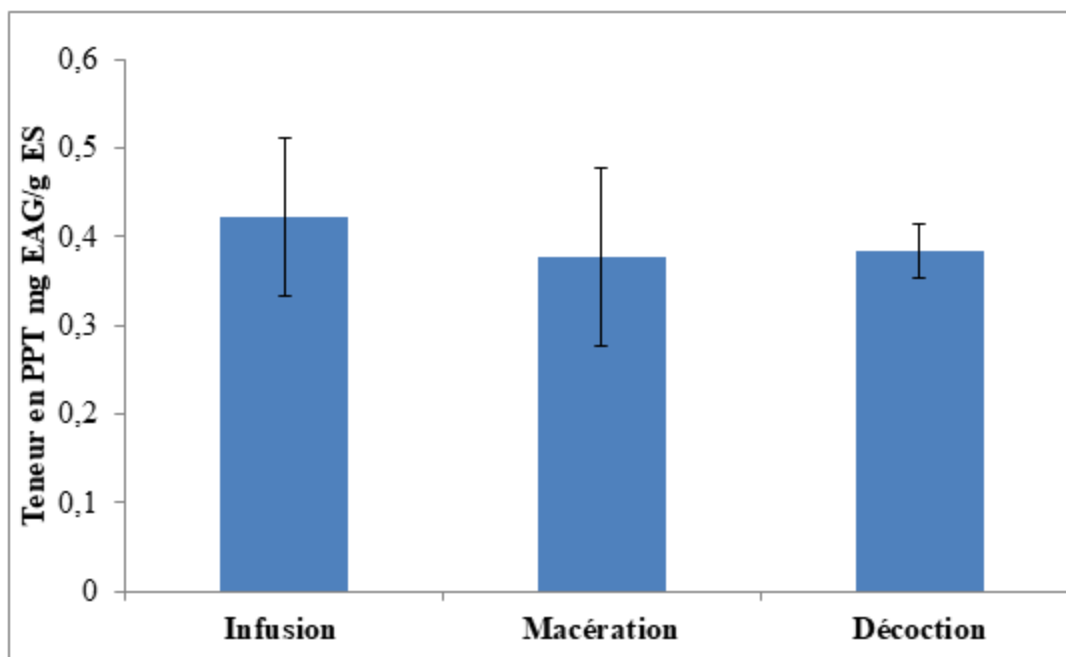


Figure 15 : Taux des polyphénols totaux d'*O.majorana*.

Selon les résultats obtenus, nous avons enregistré que l'extrait préparé par infusion présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux ($1,688 \pm 0,36$ mg d'EAG/g ES), suivi par l'extrait préparé par décoction ($1,528 \pm 0,12$ mg d'EAG/g ES), l'extrait préparé par macération ($1,508 \pm 0,4$ -mg d'EAG/g ES).

Ces résultats sont inférieurs à ceux rapporté par **Ennaji et ses collaborateurs (2020)**, où la valeur moyenne de la teneur totale des polyphénols d'extrait hydroéthanolique d'*Origanum majorana* été de l'ordre de $3,87 \pm 0,05$ mg d'EAG /g MS.

4. Dosage des flavonoïdes

Une gamme d'étalonnage a été préparée par une solution standard de la catéchine à des concentrations différentes. La formule de la régression linéaire de cette courbe été : $y=1,8757x-0,047$ avec un coefficient de corrélation R^2 égal à 0,992 (**Figure 16**).

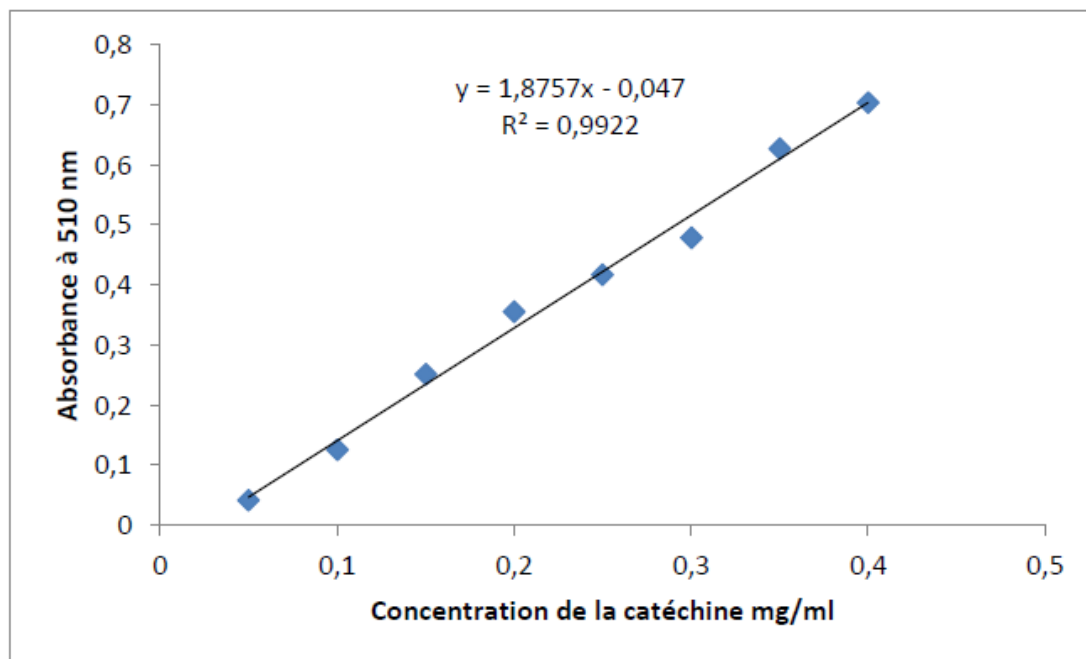


Figure 16: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Les quantités des flavonoïdes (FVT) ont été rapportées en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait sec (mg EC/g ES) et déterminé par l'équation de la courbe d'étalonnage.

Les résultats des dosages des flavonoïdes représentés dans la **figure 17**

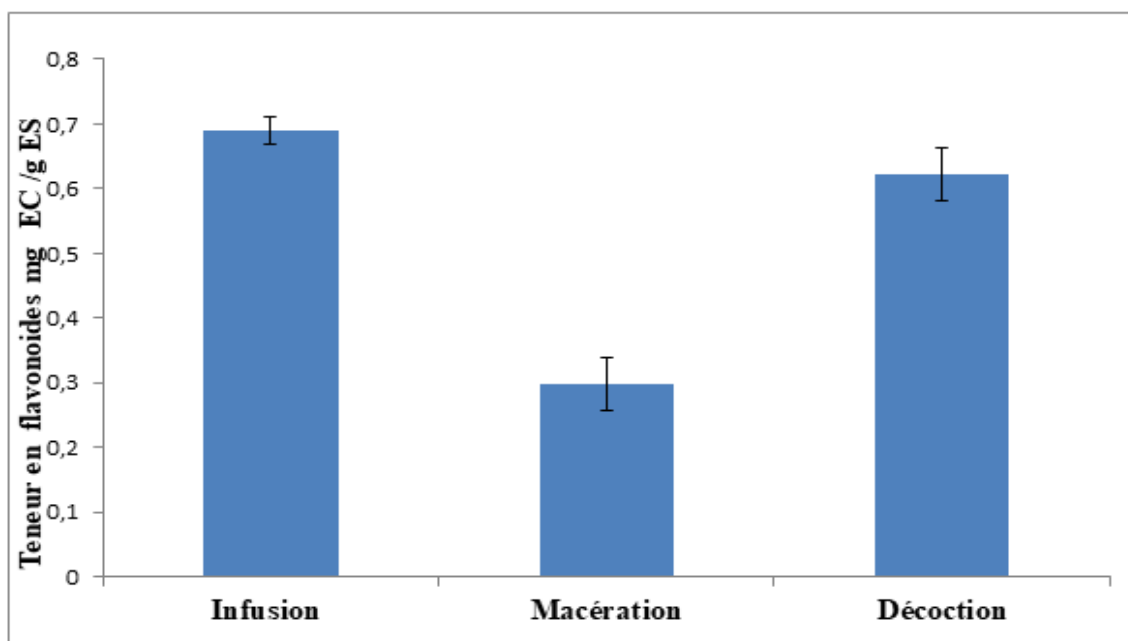


Figure 17 : Taux de flavonoïdes d'*O.majorana*.

Selon les résultats présentés dans la **figure 17**, nous avons enregistré que l'extrait préparé par infusion présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes ($0,69 \pm 0,02$ mg EC/g ES), suivi par l'extrait préparé par décoction ($0,622 \pm 0,04$ mg EC/g ES), et l'extrait préparé par macération ($0,298 \pm 0,04$ mg EC/g ES).

Une étude sur la même espèce réalisée par **Ennaji et collaborateurs (2020)**, a noté une valeur moyenne de la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait hydroéthanolique de l'ordre de $3,02 \pm 0,05$ mg QE/G MS. Ces résultats sont supérieurs à celui obtenu dans notre étude.

Une autre étude réalisée par **Benchikha et ses collaborateurs (2013)** ont montré que huile essentielle de la partie aérienne de la marjolaine (10g) est caractérisée par sa richesse en composés bioactifs : les valeurs moyennes de la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes étaient de l'ordre de $266,86$ mg EAG/g et $194,78$ mg EAG/g, respectivement.

Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre et d'une partie de plante à une autre. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs agro-climatique (**Dhull et al., 2016**); la localisation géographique; la période de la récolte; la méthode d'extraction et solvants extraction de substances actives utilisées dans chaque étude (**Oukil et al., 2011**).

5. Evaluation de l'activité antioradicalaire par DPPH

Après 30 minutes d'incubation des extraits (à différente concentration) avec le radical libre DPPH, la coloration violette du DPPH vire vers une coloration jaune dans les 03 extraits. Ce changement de couleur est dû à la réduction de DPPH, ce qui montre que les échantillons ont un effet de piégeage du radical DPPH.

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH des différents extraits aqueux d'*O. majorana* sont représentés dans les figures suivantes :

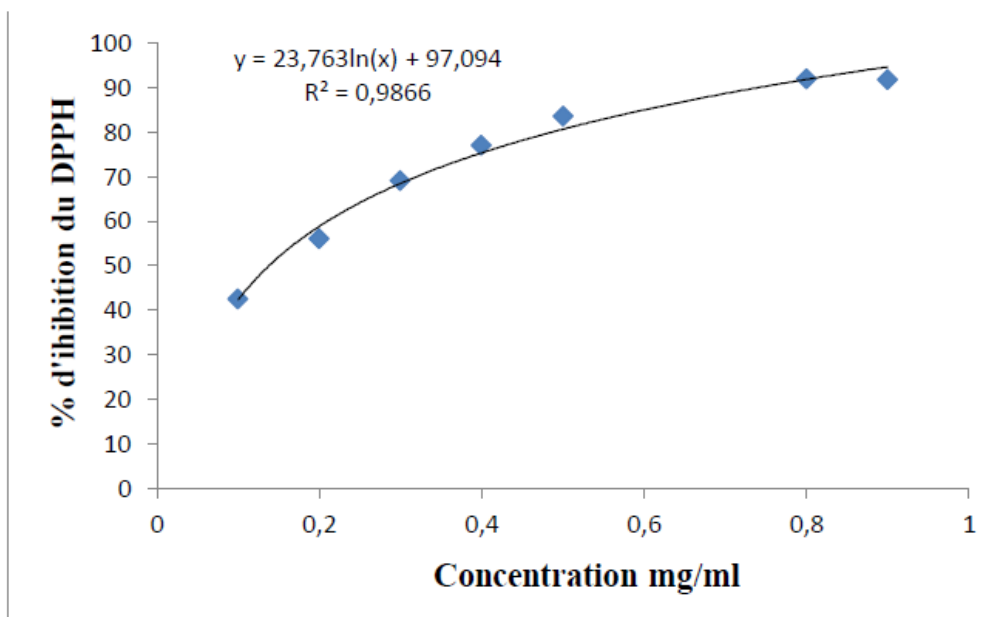


Figure 18 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait brut aqueux de la marjolaine préparé par décoction.

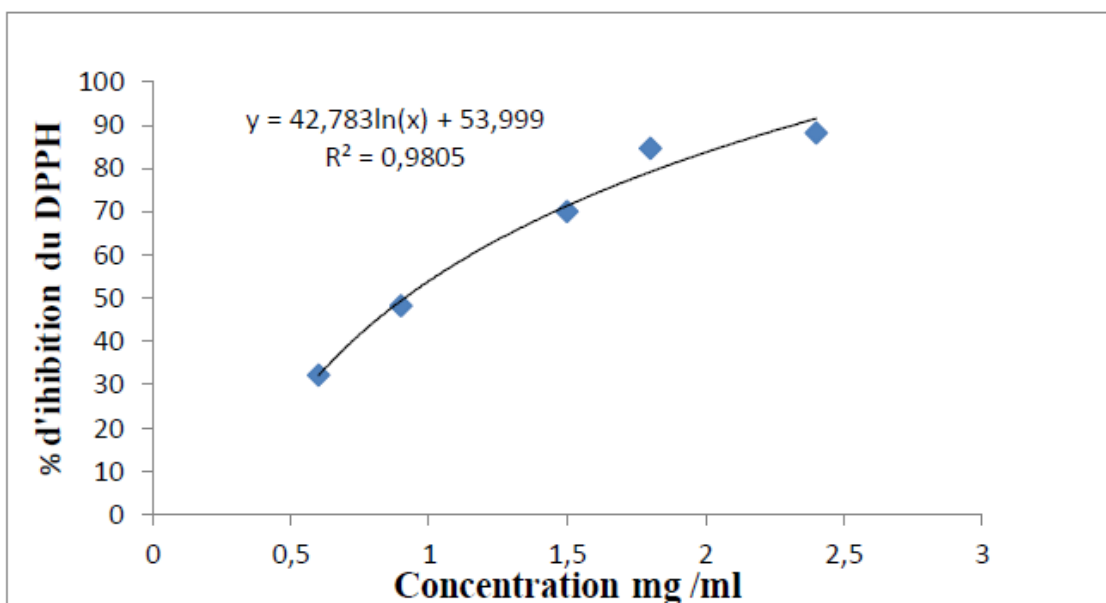


Figure 19 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait brut aqueux de la marjolaine préparé par macération.

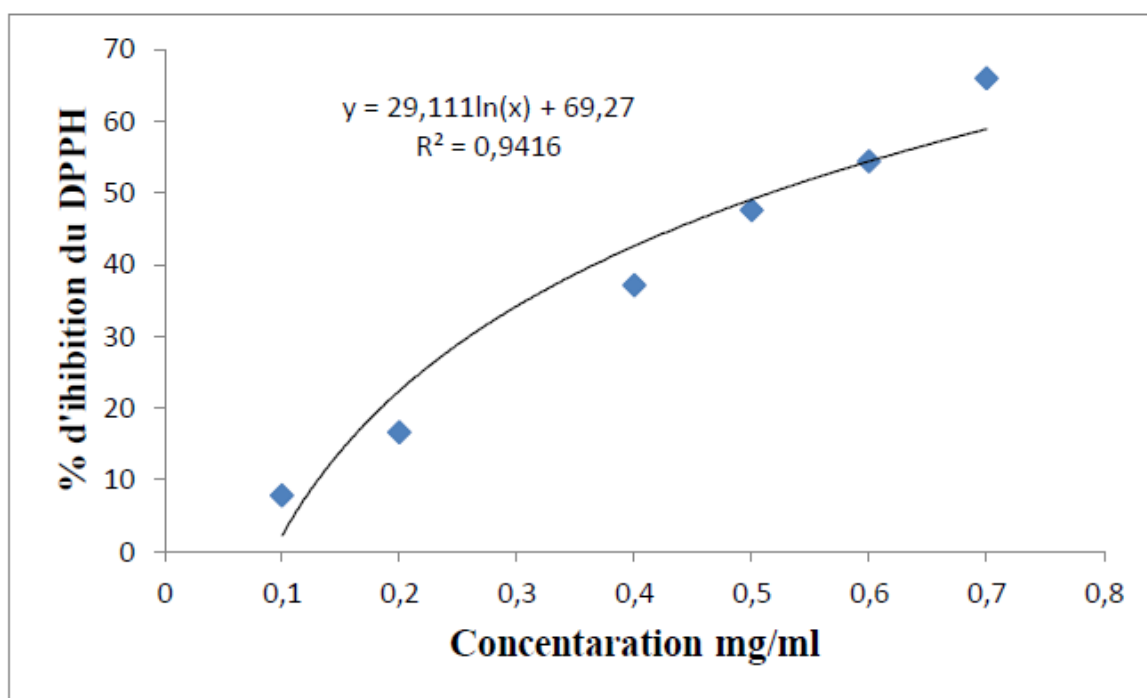


Figure 20 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait brut aqueux de la marjolaine préparé par infusion.

- La comparaison des résultats sont effectuées avec un contrôle positif utilisant l'acide ascorbique (**figure 21**).

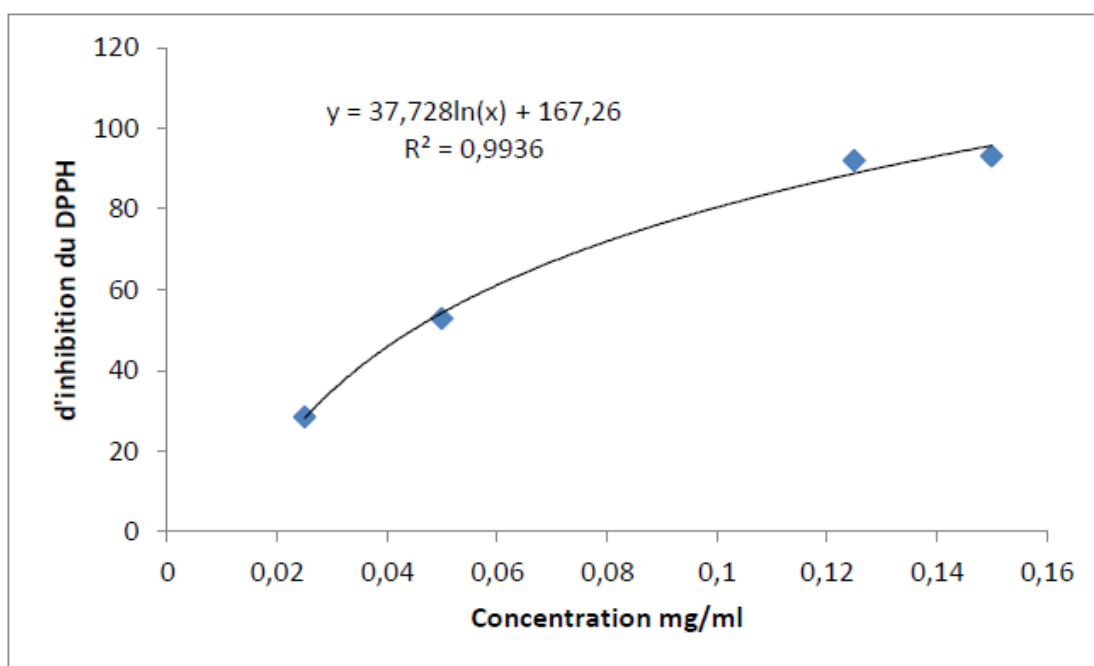


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

D'après les résultats, nous avons noté que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec augmentation de la concentration des différents extraits aqueux d'*Origanum majorana*, ce qui signifie que ces extraits ont une activité antiradicalaire très importante. Cette activité semble être liée à la présence des composés phénoliques.

Détermination d'CI₅₀

L'CI₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydants nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'CI₅₀ est petite, plus l'activité d'un antioxydant est grande. Les valeurs d'CI₅₀ de l'extrait aqueux d'*O.majorana* et d'acide ascorbique, sont représentées dans le **tableau 08**.

Tableau 08 : Valeurs d'CI₅₀ des différents extraits bruts aqueux de la marjolaine et de l'acide ascorbique

Echantillons	CI ₅₀ (mg/ml)
	Moyenne ±écart type
Acide ascorbique	0,0447±0,0005
Infusion	0,537±0,071
Décoction	0,147±0,006
Macération	0,818±0,092

D'après les valeurs obtenues, nous avons déduit que l'extrait préparé par décoction a présenté l'activité antiradicalaire la plus forte (CI₅₀ d'ordre de 0,1465 mg/ml) par rapport aux autres extraits préparés par infusion et macération qui ont présenté des CI₅₀ d'ordre de 0,537 et 0,8189 mg/ml, respectivement. Ces extraits ont présenté une différence significative en comparaison avec le standard (acide ascorbique) qui représente une capacité antioxydants (0,0447±0,0005 mg/ml).

Résultats et discussion

Une étude de l'activité antiradicalaire des parties aériennes d'*Origanum compactum* cultivées dans la région de Zoumi en Nord du Maroc, réalisée par **Bouyahya et al. (2017)**, a permis d'estimer une CI_{50} est de 137,35 $\mu\text{g/ml}$ en utilisant acétate d'éthyle comme solvant d'extraction. Nos résultats d'extraits de décoction sont presque similaires à ces résultats.

Conclusion

Conclusion

La présente étude a pour but d'évaluer qualitativement et quantitativement les substances bioactives contenues dans les extraits bruts aqueux de la partie aérienne d'*Origanum majorana*, préparés par infusion ; macération ou décoction, récoltées dans la région de Ghazaouet (Tlemcen), et de rechercher un éventuel pouvoir antiradicalaire de ces extraits.

A la lumière des résultats obtenus, Nous avons conclu que :

- ✓ L'extrait préparé par décoction a enregistré le meilleur rendement (24,48%) par rapport aux autres extraits
- ✓ Le screening phytochimique de la partie aérienne d'*Origanum majorana* a montré essentiellement la présence des quinones, terpénoïdes, tanins catéchiques, flavonoïdes et saponines.
- ✓ L'analyse quantitative sur les polyphénols totaux nous a conduit à conclure que l'espèce d'*Origanum majorana* contiennent une grande quantité de polyphénols totaux ; L'extrait préparé par infusion a présenté le taux le plus élevé en polyphénols
- ✓ Les différents extraits préparés ont une bonne activité antiradicalaire de piégeage du radical DPPH. Par conséquent l'extrait aqueux préparé par décoction a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée avec $CI_{50} 0,147 \pm 0,006$ mg/ml par rapport aux autres extraits.

Il est connu que les antioxydants inhibent les radicaux libres, et sont efficaces pour prévenir les pathologies liés au stress oxydants.

Il est souhaitable de compléter et d'approfondir ce travail par :

L'identification des molécules actives par HPLC

- ✓ L'étude *in vivo* de l'activité antioxydante (modèle animale).
- ✓ Détermination de la dose efficace minimale pour éviter les effets indésirables de la plante.

Actuellement un des problèmes de santé publique est représenté par les virus pour lesquels, il serait intéressant d'explorer les activités antivirales des plantes.

Références bibliographiques

Abcha I. (2020). Etude du potentiel biopharmaceutique et nutraceutique de deux plantes médicinales et comestibles de la Tunisie: *Rhustripartita L.* et *Ziziphus lotus L.* Thèse de doctorat. Institut National Agronomique de Tunisie.

Achat S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A.Mira-Bejaia.

Aïra R. (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de *palmier amazonien Oenocarpusbataua* (patawa). Thèse de doctorat. Université des Antilles et de la Guyane.

Azouaou A.L. (2018). Stress oxydant au cours de l'insuffisance rénale chronique marqueurs oxydants et evaluation des complications cardio-vasculaires. Thèse de doctorat. Faculté de Médecine, Université d'Alger I.

Azzi R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrulluscolocynthis*) chez le rat wistar. Thèse Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen .

Baraka-Vidot J. (2014). Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion - Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée. Thèse doctorat. Université de la Réunion.

Barouki R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. Université René Descartes. Medecine/Sciences; 22 : 266-272.

Béguel P. (2013). Etude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez L'huître creuse *Crassostrea gigas*. Thèse de doctorat. Université de Bretagne Occidentale, Ecole Doctorale des Sciences de la Mer.

Ben Salha G. (2020). Déterpénation de l'huile essentielle d'*Origanum Majorana L.* et évaluation des activités biologiques.Thèse Doctorat. Université de Tunis El Manar.

Ben Salha G., Herrera Díaz R., Labidi J., Abderrabba M. (2017). Deterpenation of *Origanum majorana L.* essential oil by reduced pressure steam distillation. Ind. CropsProd. 109:116-122.

Benchikha N. B., Menaceur M. M., & Barhi Z. (2013). Extraction and antioxidant activities of two species *Origanum* plant containing phenolic and flavonoid compounds. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 5(1), 120-128.

Benhamdi A. (2014). Etude des enzymes de stress oxydatif chez *Hedysarum pallidum Desf.* et *Lygeumspartum L.* en réponse à la pollution du sol par l'antimoine. Thèse de doctorat, Université Constantine 1.

Bensakhria A. (2018). Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif. Université catholique San Antonio de Murcie.

Bina F., Rahimi R. (2017). SweetMarjoram: A Review of Ethnopharmacology, Phytochemistry, and BiologicalActivities. *Journal of Evidence-BasedComplementary and Alternative Medicine* 22(1) : 175-185

Bouhadouda N. (2016). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba.

Boundedjah O. (2014). Mécanismes d'assemblage des granules de stress dans des conditions de stress oxydatif et osmotique. Thèse de doctorat. Université d'Evry val d'essonne.

Busatta C., Vidal R. S., Popiolski A. S., Mossi A. J., Dariva C., Rodrigues M. R. A., Cansian R.L. (2008). Application of *Origanum majorana L.* essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiology*. 25(1): 207-211.

Caillaud M. (2013). Étude de l'espèce *Origanum vulgare L.* Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université De Nantes.

Chaouche T. (2014). Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse pour obtenir le grade de doctorat en Biologie, Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen.

Cillard J. (2011). Physiopathologie du Stress Oxydant, Faculté de Pharmacie. Université de Rennes.

Couplan F. (2015). Le règne Végétale. Reconnaître et cuisiner les plantes comestibles-comestibles-Tls. Nouvelle édition.

Cox P.A., Balick M.J. (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. *Scientific American*. 270(6):82-87.

De Marchi E., Baldassari F., Bononi A., Wieckowski M. R., Pinton P. (2013). Oxidative stress in cardiovascular diseases and obesity: role of p66shc and protein Kinase C. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2013: 1-11.

DeshmaneDipti N., Chhaya H Gadgoli. & Ganesh V Halade. (2007). Anticonvulsant effect of *Origanum majorana* L. *Pharmacologyonline* 1, 7-64.

Desmier T. (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de Pharmacie Université De Limoges.

Deuschle R. A. N., Deuschle V. C. K. N., Bonfanti-Azzolin G., De Oliveira J. S., Sostisso Q. C. B., Goulart J. D. S., Golle D. P. (2018). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Origanum majorana* against Oxidative Stress Biomarkers. *J. Agric. Sci*, 10, 395.

Didier D.S., Emmanuel M.M., Alfred N., France K.M., Lagarde B.J. (2011). Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37, 2496-2507.

Djamilatou S., Djibo K., Sahabi B., Seini H. (2021). Screening phytochimique, dosage des polyphénols et détermination de l'activité antioxydante de deux plantes anti-hypertensives du Niger. *EuropeanScientific Journal*, ESJ : 17(17), 335.

Donatien K. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes extraction, identification d'alcaloïdes -caractérisation, quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydant. Thèse de doctorat. Université de Bamako.

Dridi F. (2015). Synthèse et caractérisation des dérivés quinoniques Application du tannage et test biologiques. Thèse de doctorat. Université M'hamedBougara de Boumerdés.

Durand K. (2018). Diabètes et stress oxydant. Thèse en vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Faculté de pharmacie de Marseille.

El idrissi M, Harmouch G, Amechrouq A. (2014). Chemical composition and biological activity of essential oils of *Origanum majorana* L. (Lamiaceae) and *salviaofficinalis*(L) (Lamiaceae) underbruchuslentis (coleoptera, chrysomelidae). *Global Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 2, 15-25.

Ennaji H., Chahid D., Aitssi S., Badou A., Khilil N., & Ibenmoussa S. (2020). Phytochemicals screening, cytotoxicity and antioxidant activity of the *Origanum majorana* growing in Casablanca, Morocco. *Open Journal of Biological Sciences*, 5(1), 053-059.

Favier A. (2003). Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique : 108-115.

Figueredo G. (2007). Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse Doctorat. Université Blaise Pascal.

Freire J. M., Cardoso M. G., Batista L. R. & Andrade M. A. (2011). Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illiciumverum* Hook.F and *Cinnamomum Zeylanicum* Blume, chemical and antimicrobial characterization. *Braz J Med Biol Res* 13(2): 209-2014.

Garait B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodine. Thèse de doctorat. Université de Joseph Fourier -Grenoble 1.

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.

Ghnimi W. (2020). Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Thèse de doctorat. Université de Lorraine (France) et université de Carthage.

Hafez A.A. (2012). Physico-chemical and sensory properties of cakes supplemented with different concentrations of marjoram. *Australian J. Basic Appl. Sci.* 6(6): 463-470.

Hajlaoui H., Mighri H., Aouni M., Gharsallah N., Kadri A. (2016). Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. *Microb. Pathog.* 95, 86-94.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Rev. Med. Liege*; 62 : 10 : 628-638.

Hammoudi R. (2015). Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse Doctorat. Université Kasdi Merbah Ouargla.

Hannebelle S., Sahpaz S., Bailleul. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* : 3-6.

Hwang O. (2013). Role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Experimental Neurobiology* 22(1): 11-17.

Ietswaart J.H.A. (1980). Taxonomic Revision of the genus *Origanum* (Labiatae), Leiden Botanical Series, Vol 4, Leiden University Press, The Hague, Netherlands.

Iratni A. (2016). Activités biologiques, d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *Pistacialentiscus* et d'*Origanum majorana*. Thèse doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Junioh A., Cordero A. A., Ettefagh k A., Burns J. T., Mickok T., Graf t N. (2011). Synergy-directed fractionation of botanical medicines: A case study with goldenseal (*Hydrastis canadensis*). *Journal of Natural Products*, 74:1621-1629.

Kaushal N., Kudva A. K. (2013). Oxidative stress and inflammation: "the lesser of two evils" in carcinogenesis. *Journal of Postdoctoral Research* 1(2) : 89-101.

Kazłowska M., Laudy A. E., Starosciak B. J., Napiorkowski A., Chomicz L. & Kazimierczuk Z. (2010). Antimicrobial and antiprotozoal effect of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum. Cultus* (9), 133-141.

Komaitis M. E. (1992). Composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) *Food Chemistry* 45, 117-118.

Kone k. (2009). Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et anti hypertensives de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de doctorat. Ecole Doctoral polytechnique.

Kusano C., Ferrari B. (2008). Total antioxidant capacity: à biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of cell and Molecular Biology* 7(1): 1-15.

Labiod R. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta*: activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide Thèse de doctorat en Biochimie appliqué, Université Badji Mokhtar. Annaba.

Laguna O. (2019). Valorisation des composés phénolique de Colza et de tournesol : du fractionnement des matières premières à la synthèse de molécules multifonctionnelles. Thèse de doctorat. Université de Montpellier.

Lecerf J. M. (2009). Micronutriments: l'exemple de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA): Micronutrients and Age-Related Macular Degeneration. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(5), 496-501.

Louis R. (2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation. Thèse de doctorat. Université Paris VI Pierre et Marie Curie.

Mahfouf N. (2018). Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse Doctorat. Université Chadli Benjedid -El Taraf .

Maizi Y. (2021). Evaluation et évolution du contenu phénolique et huiles essentielles de quelques plantes et fruits sélectionnés de la région de Mascara : application biologique. Thèse de doctorat. Université Mustapha Stambouli Mascara.

Manisha., Hasan W, Rajak R., Deepali J. (2017). Oxidative stress and antioxidants : an overview. *IJARR*, 2(9) : 110-119.

Martha R. & Gutierrez P. (2012). Inhibition of advanced glycation end-product formation by *Origanum majorana* in vitro and in streptozotocin-induced diabetic rats. *J EvidBasedComplementAltern Med* 1 : 1-8.

Mekhalfi T. (2016). Séparation et Détermination Structurale de Métabolites Secondaires de deux Plantes Algériennes - Activités Biologiques. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine.

Mezziti A. (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L'étude in vitro et in vivo. Mémoire magister. Université el -haj Lakhdar batna.

Michel J. (2012). Classification et influences des polyphénols du bois de chêne sur la qualité sensorielle des vins (Application du procédé Oakscan). Thèse de doctorat. Université Bordeaux.

Migdal C., Serres M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Université Lyon 1. médecine/sciences ; 27 : 405-412.

Milane H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université de Louis Pasteur.

Mima A. (2013). Inflammation and oxidative stress in diabetic nephropathy: New Insights on Its Inhibition as New Therapeutic Targets. Journal of Diabetes Research. 2013: 1-8.

Mohamed N., Yasmen S. H. &Nohir G. (2011). Antimicrobialactivity of water and ethanolMajoram (*Origanum majorana L*) extract, The 6th Arab and 3rd International AnnualScientificConference, 2350-2366.

Muanda F. (2010). Identification de polyphénols évaluation de leur Activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques.Thèse de Doctorat. Université Paul Verlaine-Metz.

Muqaddas, Khera R. A., Nadeem F., Jilani M.I . (2016). Essential ChemicalConstituents and Medicinal Uses of Marjoram (*Origanum majorana L.*). International Journal of Chemical and Biochemical Sciences 9 : 56-62.

Naif Obaid Al-Harbi. (2011). Effect of marjoram extracttreatment on the cytological and biochemical changes induced by cyclophosphamide in mice. J Med Plants Res 5(23), 5479-5485.

Nassar M. (2017). Activités biologique des molecules bioactives extraction de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri Constantine 1.

Nassour J. (2015). Rôle du stress oxydant et des cassures de l'ADN dans l'émergence néoplasique post-sénescence. Thèse de doctorat. Université de Lille 2.

Naumann H., Tedeschi L., Zeller W.,Huntley N. (2017).The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances,limitations and future directions.Journal of Animal Science : 46(12):929-949.

Oueslati O. (2017). Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande. Thèse de doctorat de l'Université Clermont Auvergne, France.

Ouis N. (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse doctorat. Université Oran1.

Pastre J. O. C. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Pererna.,Vasudeva N. (2015). *Origanum majorana* L. phyto-pharmacologicalreview. Indian Journal of Natural Products and Resources 6(4) : 261-267.

Pizza V., Iorio E., Capasso A. (2013). Parkinson's disease and oxidative stress: evaluation by BAP and d- ROMs tests. Pharmacologyonline 1: 34-38.

Poisson C. (2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat. Université Paris-Sud 11.

Rached W. (2018). Les antioxydants naturels : Identification et applications. Thèse de doctorat. Université Oran Ahmed Ben Bella.

Rajeev S., Dubey A., Garg A., Fiorino M., Ameen S., Haddad M., AL-hlary. (2019). Natural Polyphenols : Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. Journal of international : Vol. 102, 1397-1400.

Raouafi k., Nefzi H., Esghaier B., SadSa N., Abderrabba M., Ayadi S. (2021). Biologicalactivity and characterization of essential oil of areal part from *Origanum majorana* L.: First report of antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and against this biofilm. Journalof Material sand Environmental (Sciences.12(6): 746-756.

Rezaie A., Mousavi G., Nazeri M., Jafari B., Ebadi A., Ahmadeh C &Habibi E. (2011). Comparative study of sedative, pre-anesthetic and anti-anxietyeffect of *Origanum majorana* extract with diazepam on rats. J BiolSci 6(11), 611-614.

Richardin P., Capderou C., Flieder F., Bonnassies S., Raison. (2014). Analyse de quelques tannins végétaux utilisés pour la fabrication des cuirs : 152-182

Rira M. (2019). Les tanins hydrolysables et condensés: une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. Thèse de doctorat. Université Clermont Auvergne.

Rochette L., Lorin J., Zeller M., Guiland J. C., Lorgis L., Cottin Y &Vergely C. (2013). Nitricoxidesynthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets. Pharmacology&Therapeutics. J.pharmthera 10, 1016.

Rokosuieva G.A. (2015). Les soins par les plantes médicinales et la science des astres .Éditions Ambre .B.P.13 .Le Touvet Cedex .

Saidi I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : *Gleditsiatriacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse de doctorat. Université DjillaliLiabès de Sidi Bel Abbès.

Saimi A. (2014). Contribution à l'évaluation de la sensibilité d'*Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires aux quinolones et au extrait d'*Origanum glandulosum* et *cynoglossumcheirifolium*. Mémoire de magister. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

Sanago R. (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.

Sharma N., Dubey N., Sharma k. (2011). Screening of insecticidal and antifungal activity of *Origanum majorana* oil against *Callosobruchus chinensis* L, and *Aspergillus* spp, J Agric and BiolSci 7(2), 223-227.

Shin S. M., Yang J. H., Ki S. H. (2013). Role of the Nrf2-ARE pathway in liver diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013: 1-9.

Shivam. (2019). Free radicals causes Disorder& Their Treatment. IFTM University, LodhipurRaput, Moradabad. Pharmacology of free radicals.

Shweta P., Molath A., Choksi H., Kumar S ., Mehra R. (2021). Classifications of polyphenols and their potential application in human health and diseases. *International Journal of Physiology, Nutrition and Physical Education* : 6(1): 293-301.

Sytar O., & Smetanska I. (2022). Special Issue "Bioactive Compounds from Natural Sources (2020, 2021)". *Molecules*, 27(6), 1929.

Triantaphyllou K., Blekas G., Boskou D. (2001). Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, Vol. 52, No. 4, Pages 313-317.

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

Vagi E., Rapavi E., Hadolin M., Vasarhelyine P., Balazs A., Blazovics A., Simandi B. (2005). Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb Andextracts obtained with different solvents. Journal of agricultural and food chemistry, 53(1), 17-21.

Vági E., Simándi B., Suhajda Á., Héthelyi É. (2005). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. Extracts obtained with ethylalcohol and supercritical carbon dioxide. Food Res. Int. 38, 51–57.

Vasudeva N., Singla P., Das S., & Sharma S. K. (2014). Anticancer and antioxidant activity of stem and root of *Origanum majorana* Linn. American Journal of Drug Discovery and Development, 4(2), 102-112.

Wang S., Zhou L., Attia F. A. Z. K., Tang Q., Wang M., Liu Z., ... & Kang W. (2021). *Origanum majorana* L.: a nutritional supplement with immunomodulatory effects. Frontiers in nutrition, 8.

William R. (2013). Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants. Thèse de doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier.

Zeghad N. (2018). Evaluation des propriétés biopharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agroressources fonctionnelles cas de *Vitisvinifera*, *Punicagranatum*, *Citrus aurantium* et *Opuntia ficus-indica*. Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Zensani L. (2014). Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de thymus saturé et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne. Thèse doctorat. Université Mohammed V – Agdal.

Zerargui F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamuscommunis* L. Et caractérisation des substances bioactives. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.