

---

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
CENTRE UNIVERSITAIRE BELHADJ BOUCHAIB D'AÏN-TEMOUCHENT



Institut des Sciences  
Département de Sciences de la Matière  
Filière : Chimie

## Mémoire

Pour l'Obtention du Diplôme de Master  
Spécialité Chimie Macromoléculaire

Thème :

---

# Valorisation chimique et biologique d'une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle Algérienne

---

Présenté par :

**Mr. MOKTARI Mohammed Tareq**  
**Mr. MEBARKI Mohamed**

Soutenu en 2018

Devant le jury composé de :

<i>Président :</i>	<b>Mr. BOUSALEM Smain</b>	<i>(Professeur) C.U.B.B.A.</i>
<i>Examineurs</i>	<b>Mme RAMDANI Nassima</b>	<i>(M.C.A) C.U.B.B.A.</i>
	<b>Mr. CHIKHI Ilyas</b>	<i>(M.C.B) C.U.B.B.A.</i>
<i>Encadrant:</i>	<b>Mme FEKIH Nadia</b>	<i>(M.C.B) C.U.B.B.A.</i>

# *Remerciements*

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Ce travail de recherche a été effectué au Laboratoire de chimie, du département de chimie sous la supervision du Madame **Fekih Nadia**.

En second lieu, nous tenons particulièrement à remercier Madame **FEKIH Nadia**, maitre de conférences à Centre universitaire d'Ain T'émouchent, pour avoir encadré et dirigé ce travail, tout au long de sa réalisation, pour ses précieux conseils et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire, qu'elle puisse voir en ce travail l'expression de nos profonds gratitudes.

On tient à exprimer notre très grande reconnaissance à **M Bousalem Smain** notre Professeur a Centre universitaire d'Ain T'émouchent, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité qui nous a fait honneur de présider les jurys de notre travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres des jurys **Mme RAMDANI Nassima et Mr CHIKHI Ilyas** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

On tient aussi a remercié **Mr Beldjilali Mohamed** qui nous a aidé dans notre travail, et on le souhaite tous le bonheur et le sucée dans ses études.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# DEDICACE

A

tous ceux et celle qui nous souhaitent le bonheur.

## TABLE DES MATIERES

Introduction Generale.....	1
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
I-1-Définition .....	3
I-2 Classement des plantes médicinales en fonction de leurs effets thérapeutiques...	3
I-3 Règles de composition des mélanges de plantes.....	3
I-4 Les précautions d'emploi des plantes médicinales .....	4
I-5 Que trouve-t-on généralement dans les plantes?.....	4
I.6 Les polyphénols .....	5
I.6 1. Définition .....	5
I.6 2. Classification .....	6
I.6 3 Biosynthèse des composés phénoliques .....	6
I.6 4 Les flavonoïdes.....	7
I.6 5 Propriétés des flavonoïdes.....	8
I.6 6 Les structures des flavonoïdes.....	8
I.6 7 Biosynthèse des flavonoides.....	9
II-Activité biologique .....	9
II.1.Activité antioxydante .....	10
II.1.1 Généralités sur l'activité antioxydante .....	10
II.1.2. Les antioxydants .....	10
II.1.3. Principaux antioxydants .....	11
II.1.4 Classification des antioxydants suivant la nature chimique dans les aliments	11
II.1.5Antioxydants synthétiques.....	11
II.1.6-Toxicité des antioxydants.....	12
II.1.7Méthode d'étude d'activité des antioxydants des plantes médicinales.....	12
a- Méthode du piégeage du radical libre DPPH•.....	14
b- Méthode de FRAP.....	15
III-Etude botanique de l'espèce.....	16
III-1 Histoire .....	17
III-2 Distribution .....	18
III- 3 Ennemis .....	18
III- 4 Utilisation .....	18
III.5.Emplacement et association favorable de la marjolaine .....	18

III.6.Sol et exposition idéals pour planter de la marjolaine au jardin potager .....	19
III.7.Date de semis et de plantation de la marjolaine.....	19
III.8.Propriétés médicinales de la marjolaine .....	19
III.8 .1 Utilisation Interne .....	19
III.8.2 Utilisation Externe .....	19
III.9 Indications Thérapeutiques Usuelles.....	19
III.10 Composition de la marjolaine.....	19
III.10.1 Parties utilisées .....	19
III.10.2 Principes actifs .....	19
III.10.3 Utilisation et posologie de la marjolaine.....	20

## **Chapitre II : Partie expérimentale & Résultats et Discussion**

I. Préparation des extraits .....	21
I. 1.Origine et période de récolte .....	21
I. 2. Période de Récolte .....	21
I.3 séchage de la plante .....	21
I.3.1. Détermination de la teneur en eau .....	22
I.3.1. 1. Mode opératoire.....	22
I.3.1. 2. Expression des résultats .....	22
II. Extraction par solvant.....	23
III.Extraction sélectif par soxhlet .....	23
III.1. Définition d'un extracteur de soxhlet .....	24
III.2.Principe .....	24
III.3. Description :.....	24
III.4. Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet .....	24
III.5. Mode opératoire .....	24
III.6. Calcul des rendements.....	25
III.7. Résultats et discussion .....	25
IV. Examen phytochimique .....	26
IV. 1.Test qualitative .....	26
IV. 1.Principe.....	27
IV. 2.Recherche des différents groupes chimiques.....	27
IV. 2.1.Mode opératoire.....	28
IV. 2.2. Résultats et discussion .....	28
IV. 3.Test quantitative .....	29
IV. 2.1.Dosage des polyphénols totaux .....	29

IV. 2.1.1 Principe .....	29
IV. 2.1.2 Mode opératoire .....	30
IV. 2.1.3 Resultats et discussion .....	31
V. Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	31
V. 1. Test de réduction du radical stable, le DPPH•.....	31
V. 1. Principe.....	31
V. 2. Mode opératoire .....	32
V. 3. Résultats et discussion .....	33
V. 2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferricreducing-antioxidant power) .....	34
V. 2. 1. Principe .....	34
V. 2. 2 Mode opératoire.....	35
V. 2. 3 Résultat et discussion.....	36
Conclusion Generale.....	38
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>40</b>

## Liste des abréviations

DPPH· : Radical 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl

EOR : Espèces oxygénées radicalaires

Fe : Fer

Fe<sup>2+</sup> : Ions ferreux

Fe<sup>3+</sup> : Ions ferriques

FeCl<sub>3</sub> : Chlorure ferrique

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

HEs : Huile Essentielle

IC<sub>50</sub> : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

KI : Iodure de potassium

PM : plantes médicinales

Rf : retardation factor

UV/VIS: spectrophotometer

## Liste des unités

% : Pourcentage

°C: Degré Celsius

g: Gramme

h: Heure

l: Litre

mg : Milligramme

ml: Millilitre

nm : Nanomètre

v: Volume



## LISTE DES TABLEAUX

Numéro de tableau	Nom du tableau	Page
01	Description de quelques tests antioxydants	14
02	Résultats de la teneur en eau	23
03	Résultats des rendements de différents extraits	27
04	Résultats des tests phytochimique de l'extrait par éthanol	28
05	Résultats des tests phytochimique de l'extrait par l'eau	29
06	Résultat du dosage des polyphénols totaux des extraits	31
07	Test de réduction du radical DPPH° par les extraits d' <i>Origanum majorana</i>	33
08	Test de réduction du Fer par les différents extraits	36

## LISTE DES FIGURES

Numéro des figures	Nom des figures	Page
01	La voie shikimate	7
02	Structure chimique des flavonoïdes	8
03	Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton 1999)	9
04	Structure chimique du radical libre DPPH•	15
05	Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH).	15
06	Mécanisme réactionnel de test de FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (RH)	16
07	Marjolaine en période de printemps (Feuilles, Fleurs..)	16
08	Marjolaine en jardin	18
09	Carte géographique de localisation de la marjolaine	21
10	Appareil de Soxhlet à gauche, et appareil de Lickens-Nickerson à droite	23
11	Montage d'un extracteur de Soxhlet	25
12	Extraction et évaporation	26
13	Courbe d'étalonnage des phénols totaux	30
14	Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)	31
15	Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)	32
16	Pourcentage de réduction de DPPH (%) en fonction d'extrait aqueux	34
17	Pourcentage de réduction de DPPH (%) en fonction d'extrait éthanolique	34
18	Pourcentage de réduction de DPPH (%) en fonction d'acide ascorbique	34
20	Schéma sur la réaction de test FRAP (Ferricreducingantioxidant power) TPTZ : ferric2, 4,6-tripyridyl-s-triazine	35

# **Introduction générale**

## **Introduction générale**

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies [1]. L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours au 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 sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs. L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle.

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 [2].

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. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier *Origanum majorana*

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* plantes a été guidé d'une part par les indications d'usage traditionnel, d'autre part il y a peu d'information chimique et biologique sur cette plante.

Dans la première partie et en premier chapitre de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographique des composés phénoliques, leur biosynthèse et quelques activités biologiques attribués à différentes familles de ces composés.

Dans le deuxième chapitre, nous rappelons la description (les caractères botaniques et la systématique) de la plante, l'intérêt biologique et quelques travaux antérieurs réalisés sur ces plantes.

Dans la deuxième partie, nous avons envisagé la partie expérimentale qui se déroule en deux axes :

Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction et la détermination des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes et tannins). Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antioxydant des extraits des plantes.

Enfin, dans la troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus entre autre les rendements, les teneurs des composés phénoliques et l'étude de l'activité antioxydante des extraits des différentes plantes.

# **Chapitre I:**

## **Synthèse bibliographique**

## Chapitre I: Synthèse bibliographique

### I .Les plantes médicinales :

#### I.1.Définition :

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

Une plante médicinale est définie comme une drogue végétale au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Une « drogue végétale » est (entre autres) une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais.

#### I-2 Classement des plantes médicinales en fonction de leurs effets thérapeutiques :

Les plantes médicinales dans le monde sont classées selon leurs effets thérapeutiques en plusieurs catégories :

- |  |                            |
|--|----------------------------|
| <input type="checkbox"/> Antibactérien.      | Calmant.                   |
| <input type="checkbox"/> Amincissant.        | Compléments nutritionnels. |
| <input type="checkbox"/> Antidépresseur      | Dépuratif                  |
| <input type="checkbox"/> Anti inflammatoire. | Désintoxiquant             |
| <input type="checkbox"/> Antioxydant.        | Diurétique                 |
| <input type="checkbox"/> Antiseptique.       | Hypnotique.                |
| <input type="checkbox"/> Antirhumatismal.    | Laxatif.                   |
| <input type="checkbox"/> Antispasmodique     | Narcotique.                |
| <input type="checkbox"/> Antistress.         | Relaxant.                  |
| <input type="checkbox"/> Anxiolytique        | Sédatif                    |
| <input type="checkbox"/> Apéritif            | Somnifère.                 |
| <input type="checkbox"/> Aphrodisiaque.      | Stimulant.                 |
| <input type="checkbox"/> Astringent.         | Tonique (medicherb.net)    |

#### I.3.Règles de composition des mélanges de plantes :

Pour soigner certaines affections particulières, on fait souvent appel à des mélanges de plantes. La composition des mélanges des plantes obéit à des règles bien précises

- **Règle de similitude**

En phytothérapie, il est souvent intéressant d'associer des plantes qui possèdent des activités identiques (majeures ou mineures), car celles-ci peuvent exercer entre elles des

synergies ou concourir, par la mise en œuvre chacune d'un mécanisme d'action particulier, à donner un résultat final plus sûr. Par exemple, les feuilles de Mauve, qui contiennent, outre un mucilage, une substance stimulant le péristaltisme intestinal, vont renforcer l'action laxative par effet gonflant d'autres plantes riches en mucilage (Rose trémière, Psyllium, Lin, etc.).

- **Règle de complémentarité**

On associe entre elles des plantes dont l'action est complémentaire. Supposons que nous voulons traiter une toux banale : nous allons utiliser, comme plantes de base, une espèce antitussive ou antispasmodique à tropisme pulmonaire (feuilles de Cyprès, Coquelicot, etc.) et une espèce antiseptique respiratoire (bourgeons de Pin, Thym, etc.)

- **Règle de compatibilité**

Lors de la composition des mélanges de plantes, il faudra, bien entendu, veiller à ne pas associer entre elles des plantes dont certains principes actifs sont incompatibles : par exemple des plantes à alcaloïdes avec des plantes à tanins.

- **Règle d'homogénéité**

Il est préférable de ne pas associer des parties tendres (feuilles, fleurs) et des parties dures (écorces, racines ligneuses) [8].

#### **I.4. Les précautions d'emploi des plantes médicinales :**

Plusieurs nos remèdes dans la nature ne veut pas dire agir inconsciemment ou imprudemment. Ici, comme ailleurs, seule une bonne connaissance peut guider l'action et produire l'efficacité attendue d'elle. En effet, toutes les plantes ne sont pas offensives. Un végétal qui, à faible dose et dans des conditions rigoureuses d'emploi, est un médicament, peut représenter une menace pour la santé de l'Homme si les règles d'usage ne sont pas respectées. [8].

#### **I.5. Que trouve-t-on généralement dans les plantes?**

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base: acides nucléiques (ARN, ADN), lipides, protéines, acides aminés et carbohydrates.

Ces métabolites primaires sont produits en quantités élevées par les plantes et sont à faible prix de revient.

Il existe aussi un métabolisme secondaire, chez les plantes : c'est une exclusivité du monde végétal. Ces substances ne paraissent pas essentielles à la vie de la plante. Elles sont produites en très faible quantité et sont à des prix élevés. On les appelle, les métabolites secondaires. Ce



sont des produits, à structures chimiques souvent complexes. Selon les espèces, ces métabolites sont très dispersés et très différents [20].

➤ **Composés du métabolisme primaire :**

✓ **Glucides :**

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

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

✓ **Amidon :**

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

✓ **Lipides :**

Les lipides sont des esters d'alcools et d'acides gras ; ce sont des corps insolubles dans l'eau (hydrophobes), solubles dans les solvants organiques apolaires et ils ne sont pas volatils

Certains lipides ont une activité anti-inflammatoire, et anti-oedémateuse et d'autres actions pharmacologiques diverses, dont on cite, la diététique, la cosmologie, l'industrie (détergents, peinture, ...) et l'alimentation (margarine). Les lipides constituent aussi la principale réserve d'énergie, leur métabolisme aboutissant à la combustion complète libère une grande quantité d'énergie

Dans notre travail on s'intéresse des produits de métabolisme secondaire précisément les polyphénols ou les composés phénoliques..( composés du métabolisme secondaire ) après les étapes suivantes : extraction sélectifs :

### **I.6.Les polyphénols :**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où là dénomination des métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal .mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

### **I.6.1.Définition :**

De formules complexes, les polyphénols sont des molécules organiques présentes dans de nombreux légumes, fruits et plantes qui ont la réputation d'avoir des effets bénéfiques sur la santé. Le terme « polyphénol » a été introduit en 1980 en remplacement de l'ancien terme « tanin végétal ». L'expression « composés phénoliques » est aussi employée avec la même valeur. Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La désignation « polyphénols » est consacrée par l'usage et, alors qu'elle ne devrait concerner que les molécules portant plusieurs fonctions hydroxyle phénolique, elle est habituellement utilisée pour l'ensemble de ces composés.

Le terme « biophénol » fut inventé par Romeo et Uccella en 1996 pour désigner les phénols bioactifs dans les olives en remplacement du terme « polyphénol » plus commun mais plus vague d'un point de vue chimique. Utilisé au départ uniquement dans la chimie des olives, le terme a gagné en popularité et est actuellement utilisé par les chercheurs faisant référence aux phénols végétaux en général.

Il s'ajoute à cette définition le fait qu'ils possèdent un pouvoir antioxydant élevé.

### **I.6.2.Classification :**

Les polyphénols constituent une classe de molécules qui sont caractérisées par la présence de nombreux groupes phénoliques arrangés en des structures complexes. Ils ont souvent été considérés uniquement sous l'angle œnologique comme participant à la structure du vin comme supports d'arômes et de couleurs. En réalité, ils sont présents dans de nombreuses substances végétales.

Les polyphénols naturels regroupent donc un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques (acide gallique), à des composés hautement polymérisés, de plus de trente mille daltons, comme les tanins (acide tannique). [21]

### **I.6.3 Biosynthèse des composés phénoliques :**

#### **A-La voie de shikimate :**

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde [22].

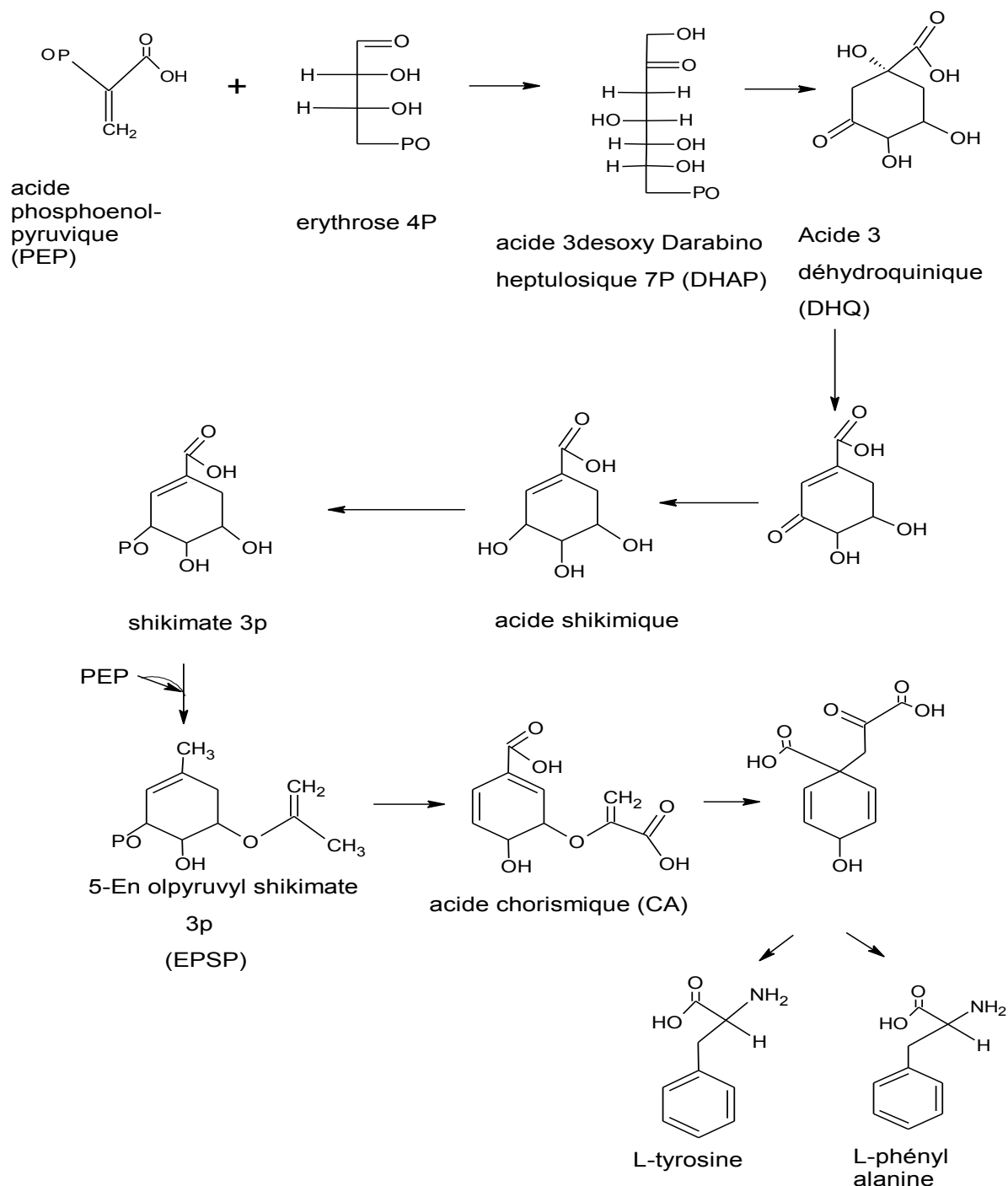


Figure 01: La voie shikimate [23].

### I.6.4. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques, selon la nature des structures et les positions des groupes hydroxyles et la structure des différents types des flavonoïdes varie par la nature de l'hétérocycle oxygéné, ces composés sont distribués en différents types : flavones, isoflavones, flavonols, flavanones, flavanes, chalcones, anthocyanidines, catechines, ptérocarpanes, et aurones [16].

Les plus connus de cette famille sont les flavonols, flavones et les anthocyanes sont très nombreux, par contre les chalcones et aurones.

Les flavones comme tous les flavonoïdes ont une structure C6-C3-C6 avec l'apparition d'un hétérocycle porteur d'un groupement carbonyle et d'une insaturation en C3.

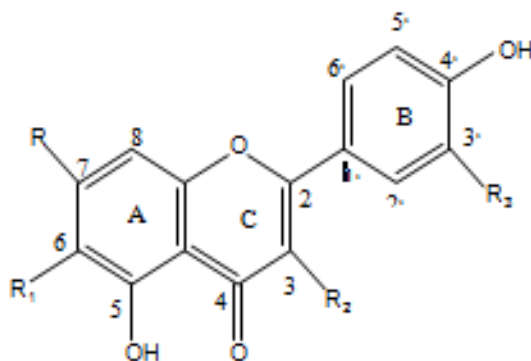
Les flavonols se différencient des flavones par l'existence d'un OH en position 3 de l'hétérocycle. cet OH est le seul qui ne soit pas phénolique. Ils sont le plus connu, parmi eux le cétine qui est un des principaux composés phénoliques de végétaux.

### **I.6.5. Propriétés des flavonoïdes :**

Vu l'intérêt pharmacologique des flavonoïdes, de nombreux travaux indiquent qu'ils possèdent des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-VIH, anti tumorales spécialement lorsqu'ils sont utilisés conjointement avec d'autres agents chimio thérapeutiques, antiviraux, antibactériens, antiallergiques. Théoriquement, les flavonoïdes pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont de puissants inhibiteurs in vitro de l'ADN gyrase [16].

### **I.6.7. Les structures des flavonoïdes :**

La structure des flavonoïdes possède quinze atomes de carbone formant deux cycles ou benzéniques contenant des groupes hydroxyles et un hétérocycle. Les deux noyaux (A, B) sont hydroxylés en méta ou ortho soit mono, di, ou tri hydroxylé. Le pont à trois carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone.



**Figure 2 :** Structure chimique des flavonoïdes

I.6.6. Biosynthèse des flavonoïdes :

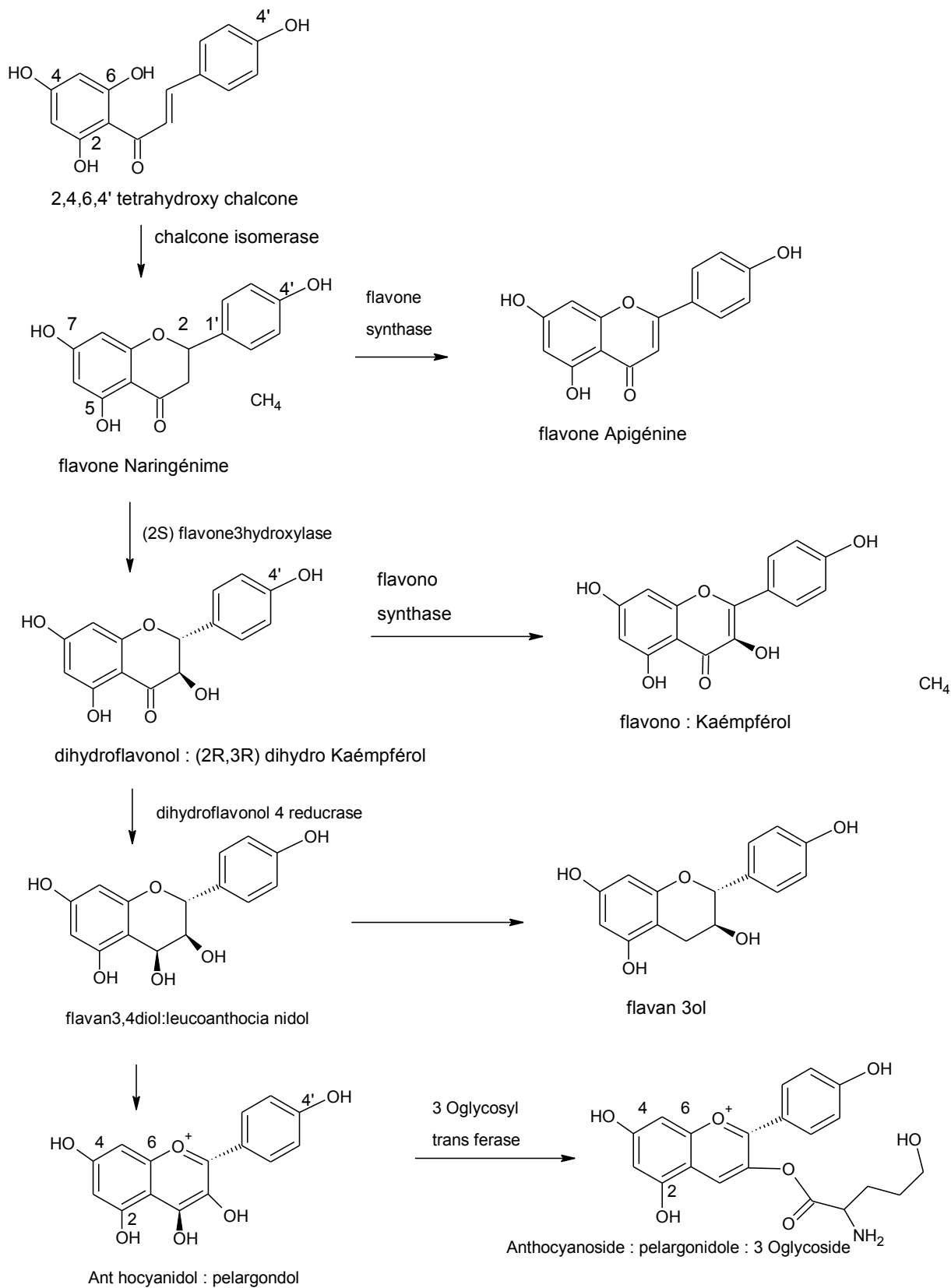


Figure 03 : Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton 1999)

## **II .Activité biologique :**

Durant ces dernières années une recrudescence d'intérêt est a remarqué concernant les effets biologiques des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif impliqué dans le vieillissement et dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, les accidents cardiovasculaires (AVC), l'ostéoporose, les maladies inflammatoires, et les maladies neurodégénératives...etc. De nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés bioactifs notamment sur les polyphénols qui agissent contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (molécules prooxydantes très réactifs causent des endommagements cellulaires graves), ces métabolites sont très utilisés dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques [11].

### **II.1.Activité antioxydante :**

#### **II.1.1 Généralités sur l'activité antioxydante :**

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs Propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires [40, 49].

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique la (vitamine C), tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénolique. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénolique dans leurs structures et les propriétés antioxydants sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libre tels que les radicaux hydroxyles etsuperoxydes [40, 49].

#### **II.1.2. Les antioxydants :**

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive [50]. Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de

l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. En même temps, les anti oxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (Haton, 2005) [11].

### **II.1.3. Principaux antioxydants :**

Il existe de très nombreuses sources d'antioxydants (tant ceux fabriqués par l'organisme que ceux qui sont fournis par les aliments) et que ces derniers réagissent constamment avec d'autres molécules et tissus, ce qui en change la forme. Il est difficile de départager, par rapport à la quantité totale d'antioxydants présents dans l'organisme, la proportion d'antioxydants attribuables à l'alimentation (antioxydants exogènes) et la proportion attribuable à la synthèse par l'organisme (antioxydants endogènes). Cela dit, on en sait beaucoup sur le rôle et l'importance relative des sources d'antioxydants endogènes et exogènes [30].

#### **A.Antioxydants endogènes :**

Antioxydants endogènes sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxydedismutase, Catalase, et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge [31].

#### **B.Antioxydants exogènes :**

- **Médicaments.**

- **Probucol ( Lurselle ) :** Probucol est un médicament qui en plus de ces effets reconnus dans la baisse du taux sanguin de cholestérol, prévient l'athérogénèse en agissant comme antioxydant et en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité [32].

- **N-acétylcystéine :** N-acétylcystéine est une molécule intéressante qui pénètre les cellules et agit de manière très efficace dans la régénération du glutathion. Des recherches ont également démontré que la N-acétylcystéine peut être utile dans le traitement des blessures de poumon dues à des espèces réactives de l'oxygène [32].

### **II.1.4. Classification des antioxydants suivant la nature chimique dans les aliments :**

Les antioxydants sont classés dans trois catégories différentes (naturelles, synthétiques et synergiques).

#### **C.Antioxydants naturels :**

Les antioxydants naturellement sont présents dans presque toutes les plantes, tous les microorganismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus

important d'antioxydants naturel comprend la vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux. [34]

### **II.1.5. Antioxydants synthétiques :**

Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques. Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle. Depuis à peu près 1980, les antioxydants naturels sont apparus comme alternative aux antioxydants, ils sont aujourd'hui généralement préférés par les consommateurs. Toutefois, le fait de trouver communément une substance dans un aliment ne constitue pas une garantie de son absence totale de toxicité. Les antioxydants synthétiques ont été testés quant à leurs effets carcinogènes ou mutagènes, mais de nombreux constituants naturels des aliments n'ont pas encore été testés [34].

#### **Antioxydants synergiques :**

Les antioxydants synergiques sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, et dont les propriétés apparaissent surtout en présence des autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés, de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants. Certains produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes, et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées [35] ;

### **II.1.6. Toxicité des antioxydants :**

Les antioxydants sont des molécules en général faiblement toxiques. Pourtant, pour certains d'entre eux, leur utilisation à forte dose n'est pas dénuée de danger. Par exemple, le radical  $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -TO.) stabilisé par mésomérie, peut initier des réactions d'oxydation avec les acides gras mono et poly insaturés des phospholipides membranaires (LH, LOOH) à l'origine de radicaux libres, et peut ainsi contribuer à la phase de propagation des réactions radicalaires survenant dans la peroxydation lipidique. Ce rôle pro oxydant de l' $\alpha$ -tocophérol en tant qu'initiateur des réactions radicalaires n'est néanmoins possible que si le radical  $\alpha$ -tocophéryl est présent en forte concentration dans les membranes et que la vitamine C n'assure pas sa régénération [36].



### **II.1.7 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 (oxygen radical absorbance capacity), TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2-azino bis 3-ethyl-benzothiazoline 6-sulphonate) et DPPH+ (2,2- diphenyl-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 [24].

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. [40] [49].

Tableau 01 : Description de quelques tests antioxydants

Tests	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
Mécanisme réactionnel	transfert d'électron majoritaire	transfert d'électron et de proton	transfert d'électron	transfert de proton
Nature des molécules testées	hydrophiles et lipophiles	hydrophiles et lipophiles	hydrophiles	hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	EC50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent Torolox®	EC50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent Torolox®	en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent $\text{Fe}^{+3}$	EC50 et/ou en mg ou $\mu\text{mol}$ équivalent Torolox
Avantages	- Très facile à mettre en oeuvre. - Peu couteux.	- Très facile à mettre en oeuvre. - Cinétique de réaction très rapide. - Peu couteux.	Très facile à mettre en oeuvre. - Peu couteux	- Facile à mettre en oeuvre. - couteux (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 <i>in vivo</i> .	- produit de dégradation antioxydants. - Radical inexistant <i>in vivo</i> . -	- PH utilisé non physiologique. -Interférences possibles à 595 nm - Interférences avec composés possédant $E^{\circ} < 0.77$ v.	- Mécanisme de génération des $\text{ROO}\cdot$ non physiologique. - Interférence possible des protéines.
Références	[14] [15]	[16-18]	[9] [19]	[20][21]

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'évaluation de cette activité par les deux méthodes suivantes :

**a- Méthode du piégeage du radical libre DPPH• :**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -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 4**). 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 [50].

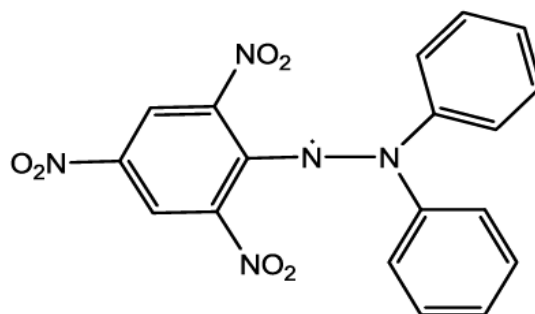


Figure 4 : Structure chimique du radical libre DPPH•

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants (Figure 5) est tributaire de deux type de mécanisme : (i) la libération de l'atome hydrogène de groupement hydroxyle ; (ii) la libération d'un électron [41,42].

L'objectif de l'étude est de proposer une technique rapide et reproductible permettant de comparer les extrais vis-à-vis de leur action sur les phénomènes du piégeage des radicaux libres [40].

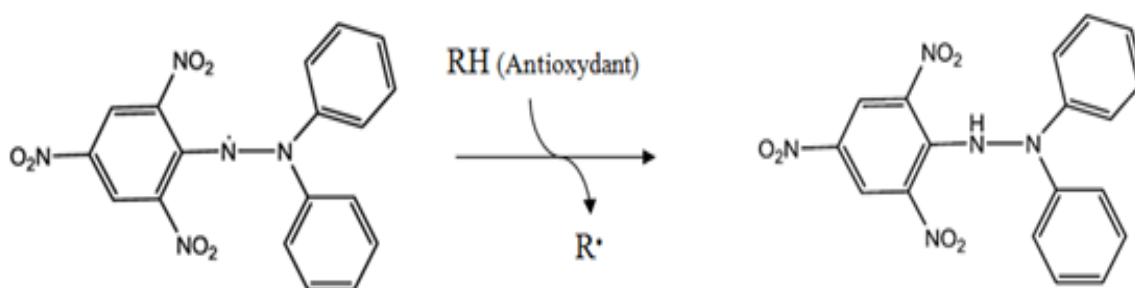
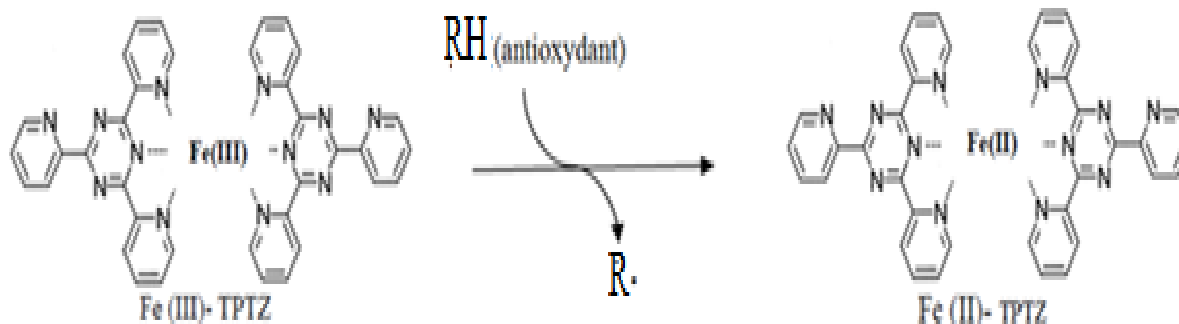


Figure 5 : Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH).

#### b- Méthode de FRAP:

La méthode de FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*), a été initialement développée pour mesurer la capacité antioxydante du plasma sanguin, ensuite le test a été généralisé aux études des pouvoirs antioxydants des extraits de plantes.[43, 44 ,45] Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (Figure 6) . La variation de la coloration est mesurée par spectrophotométrie à 593 nm. [47] Le pouvoir réducteur d'un composé est associé à son pouvoir antioxydant, une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur [48- 49].



**Figure.6** : Mécanisme réactionnel du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (RH)

### III-Etude botanique de l'espèce

**La marjolaine** est une plante annuelle [aromatique](#) appartenant à la famille des lamiacées. Originnaire de l'est du bassin méditerranéen du côté de la Turquie et de l'île de Chypre, la marjolaine, que l'on retrouve également sous le nom "marjolaine des jardins", est cultivée depuis l'Antiquité en Europe pour ses qualités aromatiques, et est souvent assimilée à la **plante origan**.

C'est une Plante vivace, de 60 cm de haut. Feuilles opposées, vert grisâtre, de forme ovale entière, de 1 à 2 cm de long. Petites fleurs blanches ou mauves (Figure 7), groupées en groupes serrés à l'aisselle des feuilles avec deux bractées en forme de cuillère.



**Figure7** : Marjolaine en periode de printemps  
(Feuilles ,Fleurs..)

**Nom scientifique** : *Origanum majorana* .

**Noms communs** : marjolaine, origan des jardins, marjolaine à coquilles, marjolaine des jardins, marjolaine officinale .

**Noms anglais** : origanum majorana , majorana , majorana hortensis

**Nom arabe** : مردقوش او بردقوش

**Classification botanique** : famille des lamiacées ( Lamiaceae )

**Formes et préparations** : tisanes, extrait, huile essentielle, teinture mère, infusions, inhalations, poudres

**Type** : Annuelle

**Origine** : Asie du sud-ouest

**Couleur** : fleurs blanches

**Exposition souhaitée** : [Ensoleillée](#)

**Type de sol** : [Normal](#), [Bien drainé](#) .

**Période de plantation** : [Mars](#), [Avril](#), [Mai](#), [Octobre](#), [Novembre](#) .

**Période de floraison** : [Juillet](#), [Août](#), [Septembre](#) .

**Hauteur** : 20 à 40 cm

**Variétés** : Marjolaine à coquilles, marjolaine des jardins, marjolaine.

**Écologie** : elle habite dans les zones ensoleillées et sèches

**Distribution** : la marjolaine est originaire de l'Asie Occidentale et du

Nord de l'Afrique. L'Égypte est le principal pays producteur mais elle est aussi cultivée en France, en Italie, au Maroc, en Tunisie et en Espagne.

**Époque de Récolte** : la première cueillette se fait au mois de juillet, en pleine floraison, quand le niveau d'huiles essentielles est à son apogée. Une deuxième cueillette peut se faire en septembre.

### **III-1 Histoire :**

Il y a 3000 ans on la cultivait déjà en Égypte, on l'appelait la plante d'Osiris. En Grèce et en Italie elle entrait dans la confection de couronnes. Au Moyen Age, les dames en mettaient dans leurs bouquets parfumés, leur sac à main et leurs bains. Sa culture s'est propagée à grande échelle en Sicile, à tel point que la cité de Marjora la garde encore en mémoire et elle lui a donné son nom latin Majorana.



**Figure 8 :** Marjolaine en jardin

**III.2.Distribution :**

Espèce originaire de l'est du bassin méditerranéen (Chypre, Turquie), cultivée depuis l'Antiquité dans toute l'Europe.

**III.3.Ennemis :**

Le papillon de nuit (hétérocère) suivant se nourrit de marjolaine : • phalène blanche, *Siona lineata* (Geometridae).

**III.4.Utilisation :**

Cette herbe s'emploie sous forme de feuilles fraîches ou séchées, seule ou en mélange avec d'autres herbes, pour aromatiser de nombreuses préparations culinaires. Son arôme plus délicat que celui de l'origan la rapproche du thym. Il convient de l'ajouter en fin de préparation, un temps de cuisson trop long risquant de faire disparaître tout son arôme.

L'essence obtenue par distillation des fleurs est antiseptique. Elle est surtout utilisée pour des fumigations. La marjolaine a des propriétés anaphrodisiaques [25]. Herbe réchauffante et relaxante, avec des propriétés antiseptiques, à prendre en infusion pour soigner états d'anxiété, de nervosité, insomnie, migraines, rhumes et affections des bronches.

**III.5.Emplacement et association favorable de la marjolaine :**

Le voisinage de la marjolaine est avantageux pour la plupart des légumes du fait de son odeur qui peut faire effet de répulsif contre certains nuisibles.

Elle supporte tout à fait d'être plantée en pot sur un balcon ou une terrasse mais trouvera aussi sa place au jardin d'aromatiques ou dans des massifs d'été.

### **III.6.Sol et exposition idéals pour planter de la marjolaine au jardin potager :**

La marjolaine se cultive en sol bien drainé, léger, sec et fertile. On peut mélanger du sable à la terre. Elle supporte les sols calcaires, les cailloux et la sécheresse. Elle a besoin d'une situation chaude, bien ensoleillée et à l'abri des gelées.

### **III.7.Date de semis et de plantation de la marjolaine**

Cette plante se multiplie par semis au printemps. On la sème en mars sous abri en caissette à 15-18°C dans du terreau sablonneux. Au fur et à mesure de son développement, on éclaircit afin que les plantules se développent bien, puis il faudra les repiquer en godets lorsqu'elles auront au moins 4 vraies feuilles.

La plantation en place se fera mi-mai lorsque les risques de gelées seront écartés.

### **III.8.Propriétés médicinales de la marjolaine**

#### **III.8 .1.Utilisation Interne :**

Par voie orale, la marjolaine, antalgique, calme les douleurs musculaires et articulaires ainsi que les règles douloureuses. C'est aussi un tranquillisant du système nerveux, très indiqué pour les personnes nerveuses, dépressives, anxieuses ou sujettes aux migraines fréquentes. Cette plante médicinale peut aussi soulager les personnes souffrant de troubles digestifs et de spasmes intestinaux, stimuler l'appétit et réguler la tension artérielle. En inhalation, cette médication naturelle nettoie les voies respiratoires.

#### **III.8.2.Utilisation Externe :**

En usage externe, la marjolaine est un antiseptique efficace contre les aphtes, la gingivite et autres infections touchant la bouche. Son huile essentielle s'utilise en massage ou en application locale pour apaiser les foulures et les douleurs articulaires ainsi que pour soigner les plaies superficielles.

### **III.9.Indications Thérapeutiques Usuelles**

Troubles digestifs, flatulences, nausées, spasmes intestinaux, diarrhées ; troubles nerveux, migraines, insomnies ; douleurs articulaires, crampes, courbatures, règles douloureuses ; inflammations de la muqueuse buccale, maux dentaires ; problèmes respiratoires.

### **III.10.Composition de la marjolaine**

#### **III.10.1.Parties utilisées :**

En phytothérapie, ce sont les feuilles fraîches ou séchées et réduites en poudre de la marjolaine qui sont utilisées en décoction. Son huile essentielle est extraite de ses sommités fleuries par distillation.

**III.10.2.Principes actifs :**

La marjolaine contient de l'huile essentielle à 3%, des flavonoïdes, des acides tri - terpéniques, dont l'acide ursolique et l'acide oléanolique, ainsi que des acides phénols.

**III.10.3.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.



# **Chapitre II : Partie expérimentale & Résultats et Discussion**

## Chapitre II : Partie expérimentale & Résultats et Discussion

### I. Préparation des extraits :

#### I.1. Origine et période de récolte :

L'*Origanum majorana*, est originaire de l'est du bassin méditerranéen du côté de la Turquie et de l'île de Chypre. Elle existe aussi dans la wilaya de Tlemcen située à l'ouest algérien entre 35°05' et 35°25' de latitudes nord et entre 0°15' et 2°15' de longitude ouest. Elle est collectée en Février 2018 dans la zone de Nedroma distante de 77 km de Tlemcen.



Figure 09 : Carte géographique de localisation de la marjolaine

#### I.2. Période de Récolte :

La cueillette se fait au mois de février, en pleine floraison, quand le niveau d'huiles essentielles est à son apogée.

#### I.3 séchage de la plante :

L'eau est un composé essentiel de la plante, tant du point de vue quantitative que qualitative. Elle représente 80 à 90 % du poids frais de la majorité des plantes herbacées. Dans les cellules matures (cellule du parenchyme foliaire, cellules des tiges, cellules racinaire) elle est essentiellement contenue dans les vacuoles où elle est retenue par des forces osmotiques. L'état hydrique de la plante, qui peut être caractéristique par la teneur en eau ou le potentiel des tissus foliaire, influence un certain nombre de processus physiologique :

- La croissance cellulaire ne peut être assurée que si le potentiel hydrique est supérieur à un potentiel hydrique critique

- Les mécanismes d'ouverture et de fermeture stomatique sont directement liés à la teneur en eau dans la plante, précisément à la turgescence des cellules stomatiques.

Pour une graine, son gonflement et sa germination sont directement liés à sa capacité à être en contact continu avec de l'eau, ceci explique, en partie, la nécessité de appuyer le sol sous la graine pour avoir une levée homogène. L'eau distribuée en continue dans la plante joue le rôle de solvant (milieu de transport de tous les composés minéraux et organique de la plante) et le rôle de réactant. Comme agent d'hydrolyse, l'eau participe activement aux réactions du métabolisme et en particulier aux réactions photosynthétiques.

### **I.3.1. Détermination de la teneur en eau :**

#### **I.3.1. 1. Mode opératoire :**

Sécher la vase de tare à l'étuve pendant 30 min à 100 °C avec couvercle incliné. Laisser refroidir dans un dessiccateur pendant 30 min puis peser la vase avec couvercle. Mettre 2 g de l'échantillon (feuilles, racines etc.) finement broyé dans vase de tare, placer la vase de tare avec l'échantillon (la plante), préalablement peser, dans l'étuve pendant 30 min à 100 °C avec couvercle incliné. Mettre rapidement le couvercle incliné, laisser refroidir au dessiccateur durant quelque minutes et peser, Remettre la vase tare à couvercle incliné dans l'étuve pendant 30 min puis peser comme précédemment. Arrêter le séchage lorsque la différence entre les deux pesées est inférieure à 0,02 g sinon continuer jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

#### **I.3.1. 2. Expression des résultats :**

La teneur en eau (%) dans la matière végétale (notre plante étudiée «*Origanum majorana*») est calculer par la formule suivante :

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

**m<sub>1</sub>** : masse de verre de tare (g).

**m<sub>2</sub>** : masse de la prise d'essai avant le séchage (g) + **m<sub>1</sub>**.

**m<sub>3</sub>** : masse de la prise d'essai après séchage (g) + **m<sub>1</sub>**.

**Tableau 02 : résultats de la teneur en eau**

m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	m <sub>3</sub>
23,59	25,63	24,28

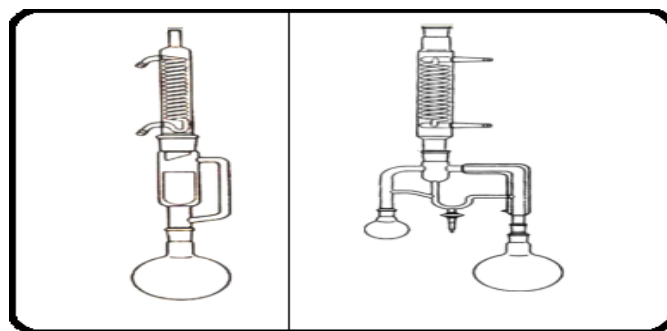
- **Application numérique :**

$$\%H_2O = \frac{24,28 - 23,59}{25,63 - 23,59} \times 100 = 33\%$$

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

## **II. Extraction par solvant :**

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson [37].



**Figure 10** : Appareil de Soxhlet à gauche, et appareil de Lickens-Nickerson à droite .

## **III.Extraction sélectif par soxhlet :**

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme (animal ou végétal) selon diverses techniques. L'extraction de molécules organiques est une phase primordiale dans les domaines de la chimie des substances naturelles et de la chimie thérapeutique [38]. En effet, si les hommes se soignent depuis des millénaires à l'aide de plantes, c'est tout simplement car elles contiennent des molécules présentant une activité thérapeutique spécifique. Or les plantes sont d'un emploi souvent délicat et peuvent présenter

des effets secondaires plus ou moins néfastes pouvant, dans certains cas, entraîner la mort. Il convient donc d'isoler les composés actifs seuls [39].

### **III.1. Définition d'un extracteur de soxhlet :**

Un extracteur de Soxhlet (ou appareil de Soxhlet) est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction par solvant en continu d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide. Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz von Soxhlet.

### **III.2.Principe :**

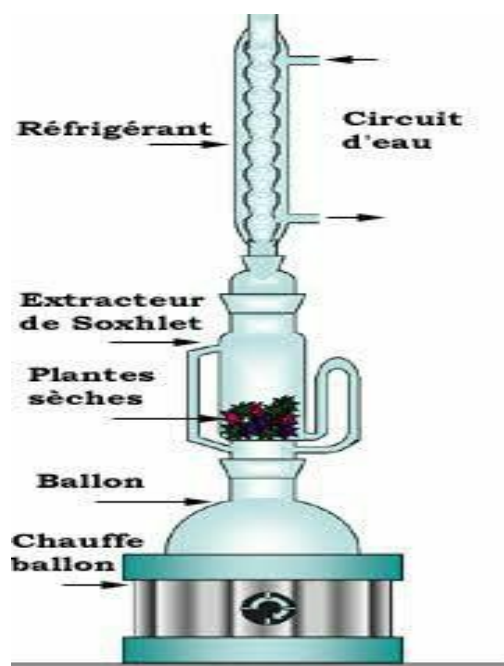
Un extracteur de Soxhlet est une pièce en verre très utilisée comme technique conventionnelle d'extraction. Il est spécialement conçu par Franz von Soxhlet, pour l'extraction continue solide liquide. Il a été souvent considéré comme une méthode de référence. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs du solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide (matière végétale) dans le solvant (chauffé par les vapeurs se trouvant en dessous). Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, ce qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites, et le solvant contenu dans le ballon, s'enrichit donc progressivement en composés solubles. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir où se situe la cartouche, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant les substances dissoutes. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant.

### **III.3. Description :**

Description Il se compose d'un corps en verre (4) dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (5), d'un tube siphon (6-7) et d'un tube d'adduction (3). Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon (2) contenant le solvant d'extraction (1). Dans l'extracteur est insérée une cartouche dans laquelle est placée la poudre contenant l'espèce à extraire ; puis un réfrigérant (9-10-11) est adapté au-dessus de l'extracteur (il est également souhaitable d'utiliser un chauffe-ballon avec agitation magnétique intégrée, afin d'éviter des à-coups d'ébullition qui provoquent une remontée du liquide contenu dans le ballon et non de vapeurs de solvant pures. À défaut on peut placer des billes de verres dans le ballon). Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant (chauffé par les vapeurs se trouvant en dessous). Le solvant condensé s'accumule dans

l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites, et le solvant contenu dans le ballon s'enrichit donc progressivement en composés solubles. Le solvant continue alors de s'évaporer, alors que les substances extraites restent dans le ballon (leur température d'ébullition doit être nettement supérieure à celle du solvant extracteur)

#### **III.4. Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet :**



**Figure11:** montage d'un extracteur de Soxhlet

#### **III.5. Mode opératoire :**

Nous avons utilisé des solvants à polarité croissantes : Le di-chlorométhane, L'éthanol, l'eau distillée, et l'éther de pétrole pour le dégraissage. On prend avec chaque solvant 10g de la plante à l'état sèche.

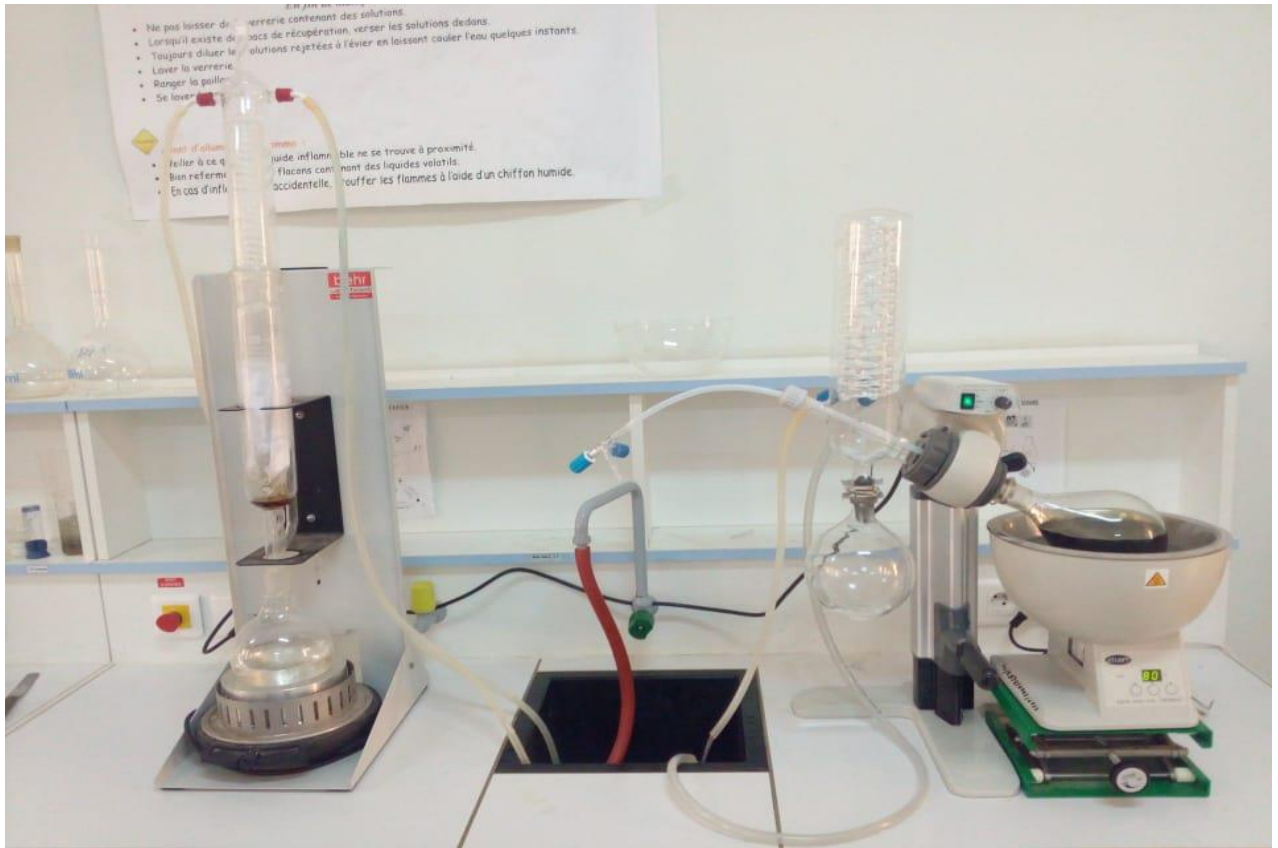


Figure 12 : Extraction et évaporation.

### III.6. Calcul des rendements :

La formule suivante nous a permis de calculer les rendements des extractions :

$$\text{Rdt} = (\text{EB}/\text{MS}) \times 100$$

Avec :

**Rdt**= Rendement

**EB**= Extrait brut obtenu après l'extraction ;

**MS** = Masse de matière à partir de laquelle l'extraction a été réalisée.

### III.7. Résultats et discussion :

Différents extraits ont été obtenus, par l'intermédiaire de Soxhlet avec 10 g de *Marjolaine du Jardin* finement broyées, En utilisant 4 solvants à polarités croissantes.

Les extraits obtenus ont des couleurs différentes avant et après évaporation (Tableau 3)

**Tableau 3:** Résultats des rendements de différents extraits

Solvant	Rendement (%)	Couleur d'extrait
Ether de pétrol	5,3	Jaune
Dichlorométhane	8	Vert
Ethanol	12,1	Vert
Eau distillée	50,6	Maron

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (**50,6 %**) et le rendement le plus faible a été obtenu par l'extrait d'éther de pétrole (**5,3%**) et cela due à la polarité des solvants.

#### **IV. Examen phytochimique :**

L'examen phytochimique est l'ensemble de tests simples qui permettent la caractérisation des constituants chimiques dans les différentes partie étudiées d'*Origan Majorana*. Ces réactions physicochimiques, aisément réalisable dans des tubes à essai, constituent la première étape dans la recherche de molécules d'origine naturelle dotées de diverses activités thérapeutiques.

##### **IV. 1. Test qualitative :**

###### **IV. 1. Principe**

La phytochimie qualitatif permet de mettre en évidence les composés chimiques qui se trouve dans un produit végétal ou autres, tel que :

- Les alcaloïdes ; Les saponines ; Les poly phénols ; - Les flavonoïdes ; - Les tanins ;

La présence de ces derniers est attestée par la formation d'un précipité, le changement de coloration du milieu...

Pour y parvenir, nous utilisons la technique des réactions en solution qui utilise les réactifs spécifiques .



## IV. 2. Recherche des différents groupes chimiques

### IV. 2.1. Mode opératoire

#### ✓ Recherche des tanins :

- Mettre 2ml de la solution à tester dans un tube à essai ;
- Ajouter 2 à 3 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> à 2% solubilisé dans une fiole de 100 ml avec l'eau distillé.

Le test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (laisser reposer quelques minutes)

#### ✓ Recherche des saponosides :

Mettre 5 ml de la solution à tester dans un tube à essai ;

- Ajouter 10 ml d'eau distillée est mélangés bien pendant 2 mn

La formation d'une mousse persistante après 15 mn confirme la présence des

#### ✓ Recherche des alcaloïdes utilisant le réactif de Wagner :

- Mettre 2ml d'extrait aqueux est éthanoïque dans un tube à essai ;
- Ajouter 2g de KI et 1,27g de I<sub>2</sub> solubilisé dans une fiole de 100 ml avec l'eau

Ce test se fait par ajout de quelques gouttes de ce réactif, séparément, aux différents extraits étudiés. L'apparition d'un précipité confirme la présence des alcaloïdes

### IV. 2.2. Résultats et discussion :

Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 0 4** : Résultats des tests phytochimique de l'extrait par éthanol

Composé	Test réalisé
Tanins	+
Saponoside	-
Alcaloïde	+

+ : Détecté

- : Non détecté

**Tableau 05** : Résultats des tests phytochimique de l'extrait par l'eau.

Composé	Test réalisé
Tanins	—
Saponoside	—
Alcaloïde	—

- ✓ L'apparition de la couleur bleu nôtre dans le tube n°1 (2 ml de la solution éthanolique avec le  $FeCl_3$ ) a permis de mettre en évidence la présence des **tanins** au niveau de l'extrait éthanolique et leur absence dans l'extrait aqueux.
- ✓ Après quelques minutes d'agitation manuelle, on remarque qu'il ya pas de la mousse dans les deux tubes ce dernier confirme l'absence des **saponosides** au niveau des deux extraits.
- La formation d'un précipité blanc dans le tube qui contient la solution éthanolique avec les réactifs de Wagner a permis de mettre en évidence la présence des alcaloïdes dans l'extrait éthanolique et leur absence dans l'extrait aqueux.

#### **IV. 3. Test quantitative**

##### **IV. 2.1. Dosage des polyphénols totaux :**

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits des deux échantillons a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode du réactif de Folin - Cicalteu.

##### **IV. 2.1.1 Principe :**

Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin - Cicalteu consiste en une solution jaune acide (Ac) contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin - Cicalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro polyacides d'où la formation d'un complexe bleu.

##### **IV. 2.1.2 Mode opératoire**

- Préparer une solution du réactif de Folin- Cicalteu dilué 10 fois est une solution de  $Na_2CO_3$  à 75 g/l
- Dans un tube à essai :
- versée 1 ml de l'extrait aqueux de la plante et mélangé avec 5 ml du réactif de FolinCicalteu (2M) dilué 10 fois et 4 ml de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à concentration de 75g/l. L'absorbance est mesurée à 765 nm, après incubation pendant 1 heure à température

ambiante. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes du dosage. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$C = c.V/m$$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

c : concentration d'acide gallique (mg/ml).

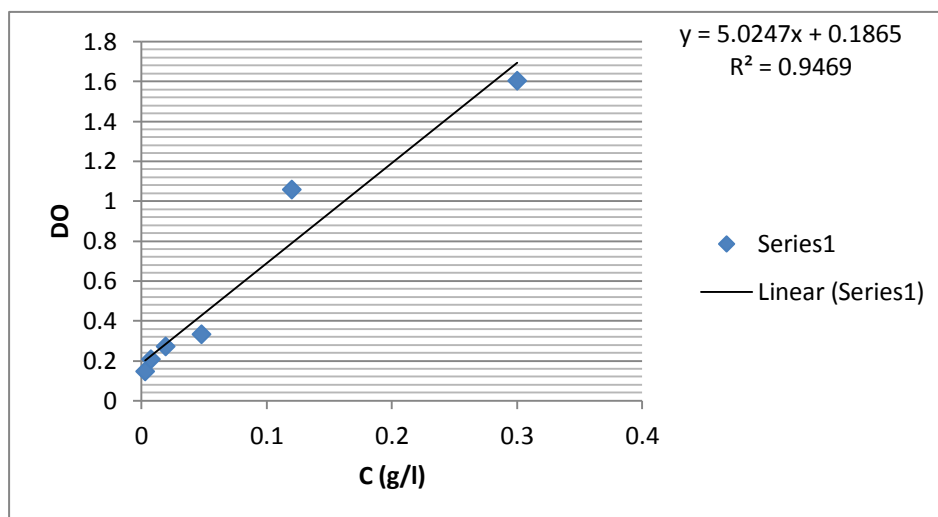
V : volume de l'extrait (ml).

m : masse de la plante (g).

Les polyphénols sont déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué par FolinCiocalteu

#### IV. 2.1.3 Resultats et discussion :

Le taux de polyphénols totaux de nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire (**Figure 13** ) établie avec des concentrations précises d'acides gallique Comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon



**Figure 13** : Courbe d'étalonnage des phénols totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques ont été représentés dans le **tableau 6**. La teneur en composés phénolique de chaque extrait de la plante est exprimée en milligramme équivalent en acide gallique par gramme de l'extrait sec.

Tableau 06 : Résultat du dosage des polyphénols totaux des extraits

Extrait	Polyphénols totaux (mg.eq/g)
Extrait de di chloro méthane	0,1
Extrait éthanoïque	0,1315
Extrait aqueux	0,2478

Selon les résultats obtenus, nous constatons que l'extrait aqueux renferme la plus grande quantité de composé phénolique (0.24mg/g). Les résultats montrent que l'extrait aqueux a des composants phénoliques totaux plus élevés que l'extrait éthanoïque. Cependant, Le contenu des polyphénols totaux trouvés dans l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique étaient respectivement 0.24 et 0.13mg EAG/mg.

#### V. Evaluation de l'activité anti-oxydante :

Le stress oxydant, cause de plusieurs maladies, l'Alzheimer, l'artériosclérose et le cancer, suscite la recherche de nouveaux remèdes antioxydants. Actuellement, La recherche vise à renforcer ces défenses endogènes par des substances naturelles issues de plantes, qui sont douées des propriétés antiradicalaires.

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité anti-oxydante *in vitro* de nos échantillons a été réalisée par deux techniques chimiques à savoir : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer.

#### V. 1. Test de réduction du radical stable, le DPPH• :

Le composé chimique (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques [26]. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (**Fig. 14**) C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les extraits testés. Ce virage de couleur est accompagné d'une diminution de l'absorbance (DO) qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction de DPPH [27].

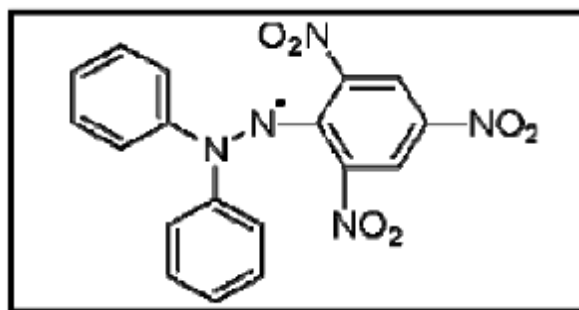
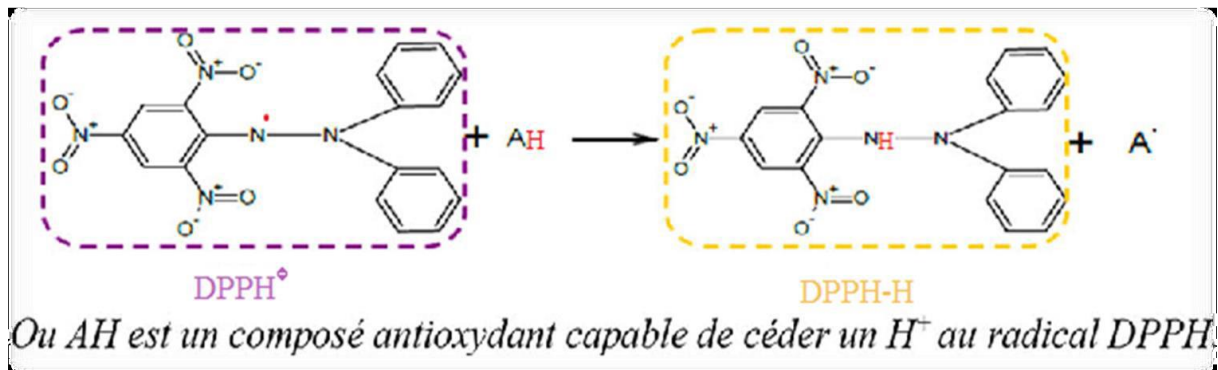


Figure14: Structure chimique du radical libre DPPH  
(2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)

**V. 1.Principe :**

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Fig. 06) [28].



**Figure 15 :** Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl).

**V. 2.Mode opératoire :**

Dans des tubes à essai, Introduire 1 ml de 0,004% solution de DPPH dans l'éthanol et mélanger avec un volume égal d'extraits d'essai à différentes concentrations et laisser à l'obscurité pendant 30 min.

L'absorbance est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (U.V/VIS Spectrophotomètre, Optizen POP).

Le contrôle est composé de 1ml de la solution éthanolique au DDPH et de 1 ml d'éthanol.

Et on prend l'éthanol comme un blanc.

**V. 3.Résultats et discussion :**

✓ **Calcul des pourcentages d'inhibition :**

On calcule ainsi les pourcentages d'inhibition 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.

Nous avons remarqué expérimentalement, que l'absorbance du mélange diminue vers une valeur plus basse, ainsi la solution change de couleur instantanément du violet au jaune. 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 7**.

**Tableau7** : Test de réduction du radical DPPH° par les extraits d'*Origanum majorana*

<b>Échantillons (mg/ml)</b>	<b>Pourcentage de réduction de DPPH (%)</b>	<b>IC50 (mg/ml)</b>
<b>Extrait ethanologique</b>		
0,4	43,65	
0,7	47,7	
2,16	45,99	0.7
3,6	61,55	
6	51,82	
<b>Extrait aqueux</b>		
0,4	59,31	
0,7	77,75	
1,3	79,48	0.29
2,16	90,17	
3,6	83,79	
<b>Acide ascorbique</b>		
3	51,82	
4	58,21	0.003
5	69,57	

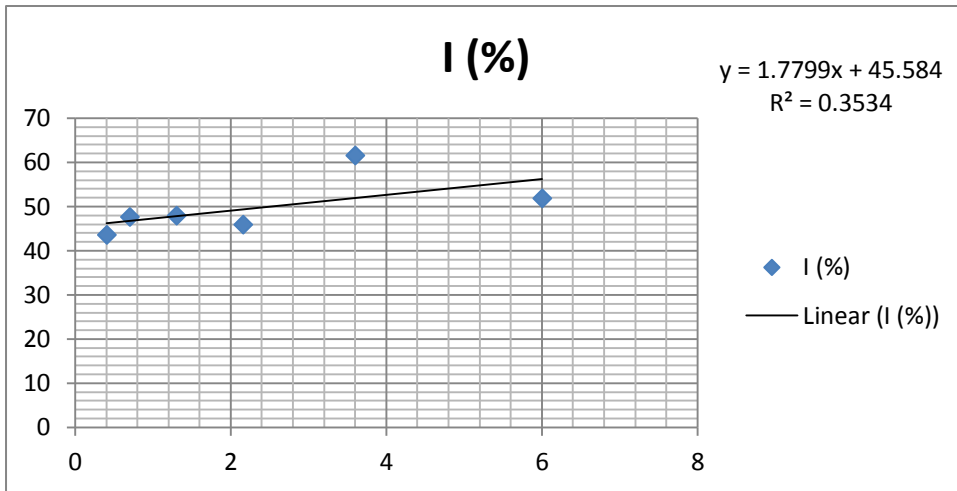


Figure 16: Pourcentage de réduction de DPPH (%) en fonction d'extrait aqueux.

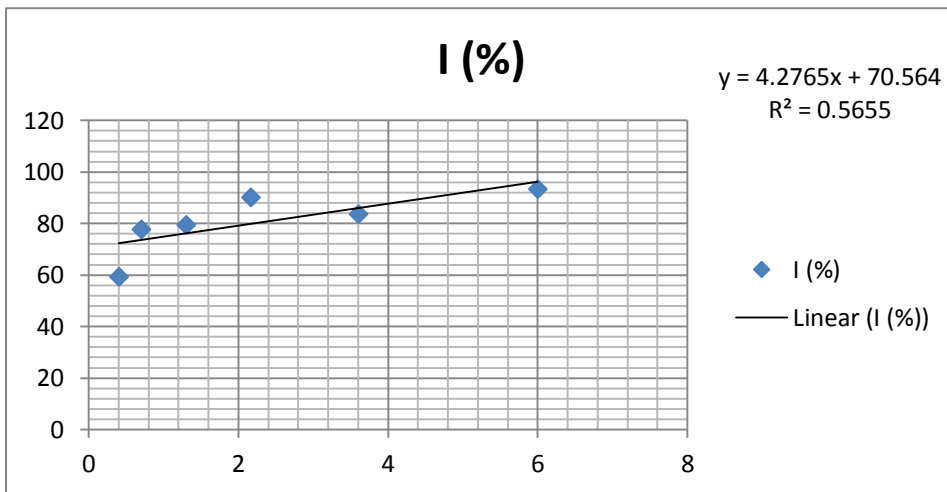


Figure 17: Pourcentage de réduction de DPPH (%) en fonction d'extrait éthanolique.

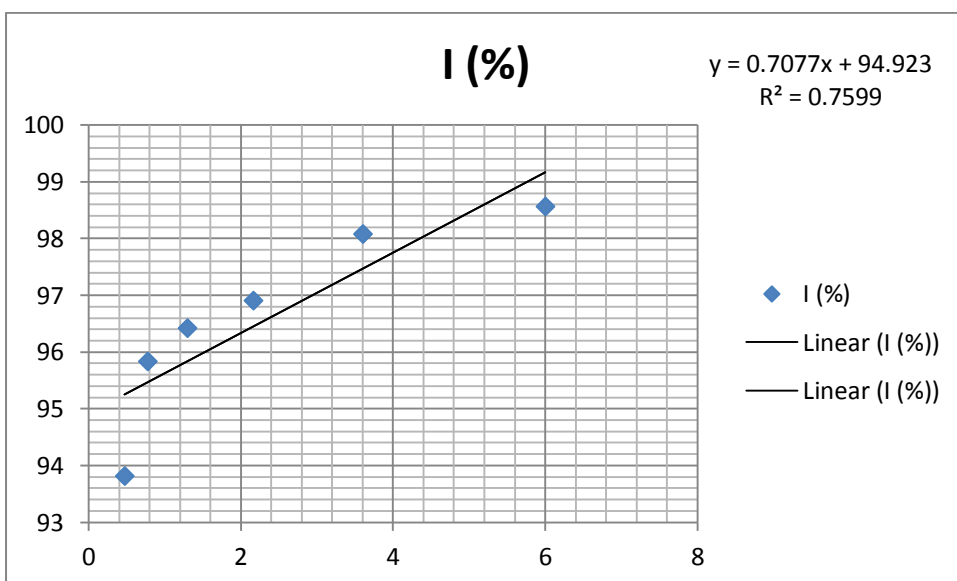


Figure 18 : Pourcentage de réduction de DPPH (%) en fonction d'acide ascorbique.

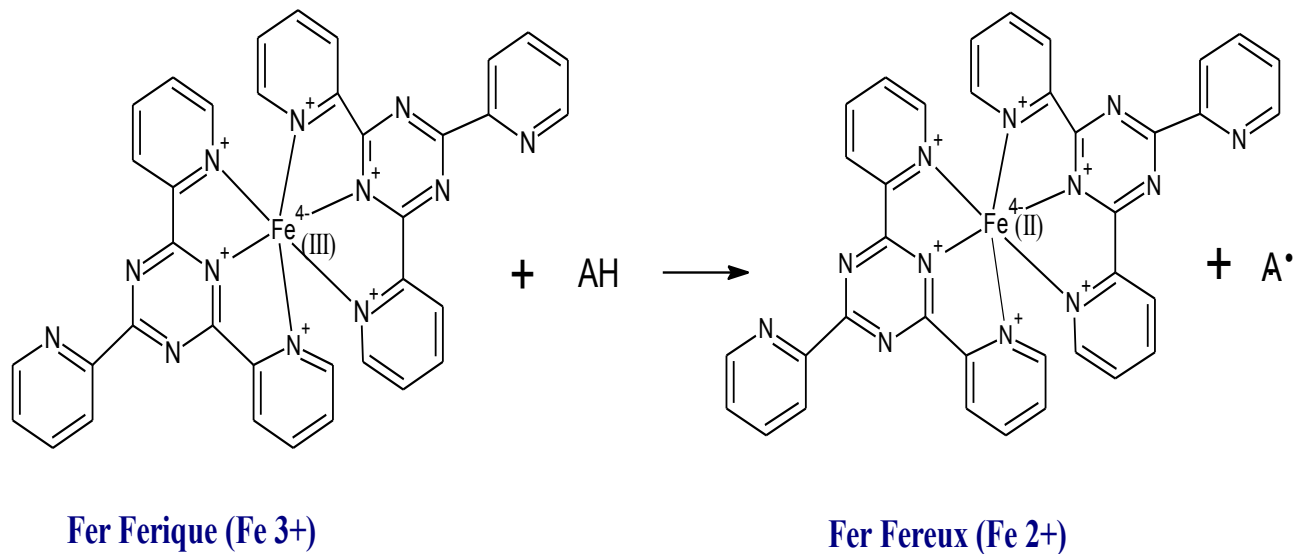
L'activité supérieure suivante (83,79 %) est de l'extrait aqueux de la partie aérienne de la **marjolaine** à une concentration de 2,16 mg/mL. L'extrait aqueux de la partie aérienne a montré donc des activités moyennes avec une atteinte de 50 % de réduction à des concentrations de 0,294 mg/mL.

En comparant les IC50 des différents extraits testés de la partie aérienne de la **marjolaine** par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué une activité antioxydante intéressante de l'extrait aqueux 0.29 mg/mL par rapport au standard. Ces résultats montrent aussi que la **marjolaine** possède une activité antioxydante mais elle est moins efficace que celle de la vitamine C

## V. 2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferricreducing-antioxidant power) :

### V. 2. 1. Principe :

Le pouvoir réducteur du fer ( $Fe^{3+}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par OYAIZ (1986) [32] La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu [29] selon la **figure 20**



**Figure 20** : Schéma sur la réaction de test FRAP (Ferricreducingantioxidant power).

TPTZ : ferric2,4,6-tripyridyl-s-triazine.

$Fe^{2+}$ : Ions ferreux.

$Fe^{3+}$  : Ions ferriques



### V. 2. 2 Mode opératoire

L'activité réductrice du fer des extraits préparés est déterminée selon la méthode décrite par (Oyaizu, 1986), basée sur la réduction du  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en  $Fe^{2+}$ . Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes ensuite ; 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. On prend 2,5 ml du surnageant sont mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés [33].

### V. 2. 3 Résultat et discussion

Les résultats du test de réduction du fer (FRAP) par l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique étudiées sont regroupés dans le Tableau 8 ci-dessous

**Tableau 8:** Test de réduction du Fer par les différents extraits

Concentrations mg /ml	1.5	1	0.75	0.58
Densité optique d'extrait aqueux <i>O. majorana</i>	0.231	0.208	0.055	0.015
Densité optique d'extrait éthanolique <i>O. majorana</i>	0.103	0.084	0.043	0.021
Densité optique du Vitamine C	0.633	0.533	0.58	0.261

Les résultats obtenus par la méthode de FRAP confirment le potentiel antioxydant important des extraits de *Origanum majorana* possèdent une bonne affinité avec les ions  $Fe^{3+}$ . Cette capacité de réduction des radicaux libres par l'extrait aqueux, à leur profil chimique riche en

composés phénoliques. Ces composés, grâce à leurs propriétés d'oxydo-réduction, agissent en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et d'oxygène singulier.

En conclusion, les activités anti oxydantes observées sont dues, principalement, à la composition chimique des extraits. L'ensemble de ses résultats laisse entrevoir des perspectives de la recherche de formulation à base des extraits étudiées à la place de certains conservateurs ou antioxydants de synthèse dans le domaine de l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

Les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes et peuvent, selon des techniques chimiques, permettre l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse. Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de ces molécules thérapeutiques d'origine naturelle

Dans le présent travail nous avons effectué l'extraction et l'évaluation phytochimique des métabolites secondaires et l'étude de l'activité antioxydant d'une plante médicinale Algérienne *Origanum majorana* appartenant à la famille des lamiacées ( Lamiaceae ) , largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle est originaire de la région de l'Asie du sud ouest.

Dans cette étude, nous avons tenté, par l'adoption d'une méthodologie scientifique, de valoriser l'avantage cette plante. En effet, plusieurs axes de recherche sont investis et des résultats intéressants sont obtenus. Ces derniers peuvent être résumés comme suit :

### Extractions sélectives

L'extraction des composés de la plante étudiée par différents solvants, nous a permis de déterminer des différents rendements, en fonction du solvant: (l'éther de pétrole, Dichlorométhane, l'éthanol et l'eau) les rendements respectifs sont (5,3% ,8%, 12,1% et 50,6%).

### Tests phytochimique :

Les familles de composés chimiques sont détectées dans la partie *Origanum majorana* tels que : Les alcaloïdes, Les tanins, est attestée par la formation d'un précipité, le changement de coloration du milieu et le test négative confirme l'absence des saponosides au niveau des deux extraits.

### Activité antioxydant :

l'étude des propriétés anti oxydantes des extraits bruts de la plante *Origanum majoranapar* par deux techniques complémentaires, à savoir la réduction relative du radical (DPPH) et le test de réduction de fer (FRAP).

Les résultats obtenus montrent un pouvoir antioxydant des extraits de *l'Origanum majorana* mais moins efficace que celui de vitamine c.

Au vue de ces résultats, il apparait que l'activité antioxydante est corrélée avec les teneurs en composés phénoliques présents dans les extraits de solvant. Aussi il a été observé qu'il y a une relation entre le potentiel de l'activité antioxydante et les niveaux des composés phénoliques totaux des extraits.

Nos travaux ont contribué à la mise en valeur de la richesse de la flore de l'Algérie.

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

## **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- [1] : M.Sanago. « Plantes médicinales ». Livres de pasteurs. Ed: (2006). Page 2.
- [2]: Chaabi, *African Journal of Biotechnology*, .Vol 8. 2008. (Page .24): 7017-7027.
- [3] : Bellakhdar Jamal, Editions Le Fenec, Casablanca (Maroc), 2006- Page 2.
- [4] : Touami Ouafa/Etude des propriétés phyto thérapeutique de la plante médicinale *Malva Sylvestris*/Université de Larbi Tébessi-Tébessa/Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie/Département : Sciences de la matière/Date de soutenance :30/05/2016.
- [5]: Site web: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Polyph%C3%A9nol> .
- [6]: Kening.Y.Vincenzo.D..L.et Normand B.Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the subseptibilityof potato to Phytophthora infestans .The plant cell.Ed: 1787-1799. (1995) . Page 7.
- [7]: Floss .H. G. Natural product Reports .Natural product derived from unusual variants of the shikimate pathway. Ed: 433-434. (1997). Page.14.
- [8] : H. Brahim.Valorisation et identification structurales des principes actifs de de la plante de la famille asteraceae: Scorzonera Undulata, université de Mentouri Constantine, 17 janvier 2011.
- [9] : MANALLAH Ahlem/Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d’olive/Université Ferhat Abbas –Sétif/Faculté des sciences/de la nature et de la vie (2012)

- [10] : C. Popovici, I. Saykova, B. Tylkowski .Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de Génie Industriel. Edition 25-39. (2009), Page.4.
- [11] : Benzid Amina & Litim Narimen/Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'Ocimum basilicum L. cultivées dans plusieurs régions d'Algérie / Université Kasdi Merbah-Ouargla/Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière/Département de Chimie/Mémoire/Master Académique/Spécialité : Chimie/Option : Chimie appliquée/ Date de soutenance : 06/2016.
- [12] : Manallah Ahlem /Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive/Université Ferhat Abbas –Sétif/Faculté des sciences/de la nature et de la vie (2012).
- [13] : M. Benbrook, Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed.The organic center (2005).
- [14]: M A. Ika, F.Minibayeva, R .Beckett, S. Lüthje Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. Phytochemistry Reviews. ). vol 3 . (2004).173-193
- [15] : I P L. Bossokpi, Etude des activités biologiques de Fagara zanthoïdoïdes Lam (Rutaceae).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako (2002).
- [16] : K.Pelli, M. Lyly Les antioxydants dans l'alimentation. VTT Biotechnology Finlande. ) vol (3) : 9. (2003).
- [17] : M. marie - claud, Les antioxydants. Actifs et additifs en cosmétologie. Ed. Tec & Doc (2004).
- [18] : J. Pastre, N. Priymenko, Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Revue Méd. Vol 4:187. (2007).



- [19] :W. Brand-Williams, M. Cuvelier et C. Bereset Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft und –Technologie*. Ed, 25-30. Page.28. (1995).
- [20] :M. Pinelo, M. Rubilar, J. Sineiro et M. J. Nunez .Extraction of antioxidant phenolic form almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*), *Food chemistry* .Ed, 267-273.(2004) .Page.85.
- [21] : M. J. Awika et W. L. Rooney. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health, *Phytochemistry* .Ed, 1199-1221. (2004),, Page.65.
- [22]: R. Flash, M. Osman, A. Dicainson et C. Heyes. The interaction between response effects during the acquisition of response priming, *Acta psychologica*. Ed: 11-26. (2005) Page122.
- [23]: I. F. Benzie et J.J. Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1), (1996). 70-76.
- [24] : F.F. Iris, I.F. Benzie et J.J. Strain. Ferric reducing antioxidant power assay, *Methods Enzymol*, 299, (1999), 15–27.
- [25] :B. Ou, D. Huang, M. Hamtsch-Woodill, J. Flanagan et E. De-Emer., Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study, *J. Agric. Food Chem*, 50, (2002).3122-3128.
- [26] : B. Ou, M. Hamtsch-Woodill et R. L. Prior.Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe, *J. Agric. Food Chem*, 49, (2003).4619-4926.
- [27] : M. Hernandez-Lopez, J. A. Randez et F. Randez-Gil. Osmotolerance and leaving ability in sweet and frozen sweet dough. Camparative analysis between *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast strain, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 84 (2), (2003) .34-125.

[28] : Benzid Amina & Litim Narimen/Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. cultivées dans plusieurs régions d'Algérie / Université Kasdi Merbah-Ouargla/Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière/Département de Chimie/Mémoire/Master Académique/Spécialité : Chimie/Option : Chimie appliquée/ Date de soutenance : 06/2016.

[29]: F. Nanjo, K. Goto, R. Seto, M. Suzuki, M. Sakai et Y. Hara.Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol Md.*, 21 (6), .895-902.

[30]: I. F. Benzie et J.J. Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), (1996). 70-76.

[31] : I. F. Benzie et J.J. Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), (1996), 70-76.

[32]: F.F. Iris, I.F. Benzie et J.J. Strain. Ferric reducing antioxidant power assay, *Methods Enzymol*, 299, (1999) . 15–27.

[33] : J. Nilsson, D. Pillal, G. Önning, C. Persson, A. Nilsson et B. Akesson. Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, Ed.239–246. . Page.2005

[34] : I.F. Benzie, W.Y. Chung et J.J. Strain.Antioxidant (reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10 (3). (1999).146-150.

[35] : J. Hubert. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, Ecole. (2006).

[36]: Site web: [https://fr.wikipedia.org/wiki/Origanum\\_majorana](https://fr.wikipedia.org/wiki/Origanum_majorana).

[37] : P. Franchomme, et D. Pénéol, L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. (1990).

[38] : <http://www.lachimie.fr/materiel/extraction.php>.

[39] : P. Larousse, Dictionnaire de la langue française : lexis, Paris, Larousse, 1re éd, 1989.

[40] C. Popovici, I. Saykova, B. Tylkowski, Evaluation de l'activité antioxydante des Composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de Génie Industriel, 4, 2009, 25-39.

[41] F. Nanjo, K. Goto, R. Seto, M. Suzuki, M. Sakai et Y. Hara. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Free Radic Biol Md.21 (6) , 1996, 895-902.

[42] I. F. Benzie et J.J. Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239(1) , 1996, 70-76.

[43] I. F. Benzie et J.J. Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239(1), 1996, 70-76.

[45] : F.F. Iris, I.F. Benzie et J.J. Strain. Ferric reducing antioxidant power assay, Methods Enzymol, 299, 1996, 15-27.

[46] : J. Nilsson, D. Pillal, G. Önning, C. Persson, A. Nilsson et B. Akesson. Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49,2005, 239–246.

[47] : I.F. Benzie, W.Y. Chung et J.J. Strain. Antioxidant (reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10 (3), 1999, 146-150.

[48] : J. Hubert. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, Spécialité: Qualité et sécurité des aliments., 2006, 174.

[49] : BENZID Amina & LITIM Narimen/Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. cultivées dans plusieurs régions d'Algérie / Université Kasdi Merbah-Ouargla/Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière/Département de Chimie/Mémoire/Master Académique/Spécialité : Chimie/Option : Chimie appliquée/ Date de soutenance : 06/2016.

[50] : Perovskites and Related Mixed Oxides , Concept and application, Shimizu H , Ed 26, 1-10 , Page 17 , (2004)

# **Annexes**

## Listes des Réactifs utilisés :

### a- Ether de petrol :

- Formule générale :  $C_2H_6O$
- Masse molaire :  $M=46,07$  g/mole
- Point de fusion :  $-114,14$  °C
- Point d'ébullition :  $78,24$  °C
- Densité :  $d =0,7893$  g/cm<sup>3</sup>

### b- Chlorure ferrique :

- Formule générale :  $FeCl_3$
- Masse molaire :  $M=162,204$  g/mole
- Point de fusion :  $306$  °C
- Point d'ébullition  $315$  °C
- Densité :  $d =1,4$  g/ml

### c- Sodium carbonate :

- Formule générale :  $Na_2CO_3$
- Masse molaire :  $M=286,1416$  g/mole
- Point de fusion :  $851$  °C
- Densité :  $d =1,92$  g/cm<sup>3</sup> ( $856^\circ$ )

### d- Acide gallique :

- Formule molaire :  $C_7H_6O_5$
- Masse molaire :  $M=170,1195$  g/mole
- Point de fusion :  $210^\circ C$
- Densité :  $d =1,694$  g/cm<sup>3</sup>

### e- Acide ascorbique (vitamine C) :

- Formule générale :  $C_6H_8O_6$
- Masse molaire :  $M=176,12$  g/mole
- Point de fusion :  $190^\circ C$
- Point d'ébullition :  $553$  °C.
- Densité :  $d =1,694$  g/cm<sup>3</sup>

### f- DPPH :

- Formule générale :  $C_{18}H_{12}N_5O_6$
- Masse molaire :  $M=394,32$  g/mole
- Point de fusion :  $135^\circ C$
- Densité :  $d =1,4$  g/cm<sup>3</sup>

### **g- Ferricyanure de potassium :**

- Formule générale :  $K_3 [ Fe (CN)_6 ]$
- Masse molaire :  $M=329,24 \text{ g/mole}$
- Point de fusion :  $300^\circ\text{C}$
- Point d'ébullition : se décompose.
- Densité :  $d =1,89 \text{ g/cm}^3$

### **h- Iodine :**

- Formule générale :  $I$
- Masse molaire :  $M=126,904 \text{ g/mole}$
- Point de fusion :  $113,7^\circ\text{C}$
- Point d'ébullition :  $1824,3 \text{ }^\circ\text{C}$
- Densité :  $d =4,933 \text{ g/cm}^3$

### **i- Eau :**

- Formule générale :  $H_2O$
- Masse molaire :  $M=18 \text{ g/mole}$
- Point de fusion :  $0 \text{ }^\circ\text{C}$
- Point d'ébullition :  $100,02 \text{ }^\circ\text{C}$
- Densité :  $d =1000 \text{ kg/m}^3$

### **j-éthanol :**

- Formule générale :  $C_2H_6O$
- Masse molaire :  $M=46,0684 \text{ g/mole}$
- Point de fusion :  $-114 \text{ }^\circ\text{C}$
- Point d'ébullition :  $79 \text{ }^\circ\text{C}$
- Densité :  $d =789 \text{ kg/m}^3$

### **k-Di chloro méthane :**

- Formule générale :  $CH_2Cl_2$
- Masse molaire :  $M=84,933 \text{ g/mol}$
- Point de fusion :  $-95,1 \text{ }^\circ\text{C}$
- Point d'ébullition :  $40 \text{ }^\circ\text{C}$
- Densité :  $d =1,33 \text{ g/cm}^3$

## Résumé

*L'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 sélective avec différents solvants (éther de pétrole, DMC, éthanol et l'eau) utilisant un montage de Soxhlet. Les tests phytochimiques réalisés ont permis de détecter les tanins, saponosides et des alcaloïdes. L'évaluation du pouvoir antioxydant appliquée a été réalisée par deux techniques Piégeage du radical DPPH, réducteur du fer (FRAP). Les propriétés antioxydantes révèlent que l'extrait aqueux est le plus intéressant.

**Mots clés :** *Origanum majorana*, Etude phytochimique, Activité antioxydante, Réduction de fer FRAP, piégeage du DPPH.

## Abstract

*Origanum majorana* is a plant which belongs to the family of lamiacées. It is a medicinal plant used in the traditional medicine in Algeria to handle diverse diseases. The various parts of this plants (roots, sheets, stalks..) subjected to an extraction sélective with various solvents (ether of pétrol, DMC, ethanol and the water) using an assembly of Soxhlet. The realized phytochemical tests allowed to detect tannins, saponosides and alkaloids. The evaluation of antioxidant power of the extract of the Arian part (party) was also envisaged by two methods radical DPPH, the reducer of the iron (FRAP). The realized phytochemical tests allowed to detect tannins, saponosides and alkaloids.

The antioxidizing properties using two tests reveal that the antioxidizing activity of the aqueous extract is the most interesting.

**Keywords:** *Origanum majorana*, phytochemical Study, antioxidizing Activity, Iron reduction FRAP, trapping of the DPPH.

## المخلص

البردقوش او المردقوش والمعروف با (*Origanum majorana*)

هو عبارة عن نبات عشبي؛ و يعتبر من النباتات المعمرة؛ و التي

تنتمي الى العائلة الفصليّة الشفوية؛ ينتمي الى مجموعة النعناع؛ تستخدم في كثير من العلاجات الطبية؛ نذكر منها.. البرد؛ علاج اضطرابا الجهاز الهضمي؛ مرض الكبد؛ العيون؛ السكري؛ الغدة الدرقية؛ للحمل او الرضاع. لهذا قمنا ببعض

الدراسات النباتية حول هذه النبتة باستخلاص

المواد الفعالة و نواتج عملية الايض؛ و بعدها قمنا بالكشف عن المواد الفعالة الموجودة في كل مستخلص حسب نوعية المحلول المستعمل حيث ظهر لنا ان الماء هو المحلول المناسب لاستخلاص كميات معتبرة من اليوليفينول و الفلافونويد .. و في الاخير قمنا باختبار هل هذه المستخلصات تحتوي على خاصية مضادة للاكسدة حيث نتج لنا ان مستخلص الماء له خاصية ضد الاكسدة اكبر من مستخلص الايثانول.

## الكلمات المفتاحية

البردقوش عملية الايض مضادة للاكسدة



