



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. : .....2021

---

Présenté et soutenu par :  
**BERSAS Ibtihal, BERBARI Rabiaa**

Le : mardi 29 juin 2021

### Thème

# Effet biologique de la plante médicinale *Origanum majorana*

---

#### Jury :

Mme. BENHARZALLAH Naouel	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. BOUATROUS Yamina	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. MEDDOUR Asmaa	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020 - 2021

## Remerciements

*Nous voudrions exprimer notre gratitude et remercier à **ALLAH** avant tout qui nous a donné le courage et la volonté d'accomplir ce travail.*

*Nous remercions sincèrement tous les professeurs et les personnes qui ont guidé nos idées, par leurs paroles, leurs conseils et leurs critiques, qui nous ont soutenus moralement et ils nous ont soutenus moralement, et ils ont été l'une des raisons de nos progrès.*

*Nous remercions les membres du jury pour leur collaboration lors de l'examen de ce travail et leur participation à la défense, ainsi que pour toute leur attention à l'évaluation de notre travail.*

*Enfin, nous remercions nos amis Oum hani, Amel, Zahra et Fatiha, qui ont toujours été là pour nous. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande aide.*

*À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.*

## Dédicace

*Je dédie ce mémoire A mon père Mabrouk et ma mère khadidja pour leur amour inestimable, leurs sacrifices, leur confiance, leur soutien et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.*

*A mes sœurs Iman, Asmaa, Aicha, Djoumana, Malak  
Je n'oublierai pas votre aide et vos prières pour nous tout au long de nos années, que Dieu vous protège.*

*A mes frères Zakaria, Mohamed Islam, qui ont toujours été présents pour moi. Merci pour votre encouragement et confiance.*

*Ainsi qu'à tous mes amis Oum hani, Nour, khadidja, Amel, zahra, chaimaa  
Et tous les gens que je connais.*

*Ibtihal*

## Dédicace

*C'est avec l'aide et la grâce du Dieu que j'ai achevé ce modeste travail que je dédie :*

*A mes chères parents LAKHDAR et NOURA, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur, de le leur amour inestimable, leur confiance leur soutien, leur sacrifices et toute les valeurs qu'ils ont su m'inculquer .c'est grâce à eux que je suis arrivée la aujourd'hui. Que dieu les protège et leur procure bonne santé et longue vie.*

*A mon cher mari Fares*

*Et bien sur mes supers Frères Abd Elhak et Foudil.*

*A mes chères sœur Buochra.*

*A mes amies intimes Iness, Fatiha, Amel, Amina*

*Et tous les gens que je connais.*

***Rabiaa***

## Table de matières

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures .....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction .....	1

### Synthèse bibliographiques

#### Chapitre 1 *Présentation de la plante Origanum majorana*

1.1. Historique.....	3
1.2. Taxonomie : .....	3
1.3. Dénominations de marjolaine : .....	4
1.4. Description botanique : .....	4
1.5. Répartition géographique : .....	5
1.6. Constituants phytochimiques.....	5

#### Chapitre 2

2.1. Définition : .....	7
2.2. Le rôle de métabolites secondaires : .....	7
2.3. Classification des métabolites secondaire : .....	7
2.3.1. Les composés phénoliques : .....	7
2.3.2. Les flavonoïdes .....	8
2.3.2.1. Biosynthèse des flavonoïdes : .....	9
2.3.3. Tannin : .....	10
2.3.4. Terpène : .....	10
2.4. Activités biologiques d' <i>Origanum majorana</i> .....	11
2.4.1. Activité antioxydant : .....	11
2.4.2. Antibactérien : .....	11
2.4.3. Antidiabétique : .....	11
2.4.4. Antifongique : .....	11
2.4.5. activité anti-inflammatoire : .....	11

### Partie Expérimental

#### Chapitre 3

3. Matériels et méthodes:.....	12
3.1. Matériels végétales:.....	12
3.2. Method:.....	12
3.2.1. Fractionnement d'huile essentielle:.....	12
3.2.2. Analyse GC-FID :.....	13
3.2.3. Analyse GC /MS :.....	13
3.2.4. Activité antioxydant .....	13
3.2.4.1. Capacité de récupération sur radical DPPH:.....	13
3.2.4.2. Activité de récupération des radicaux anioniques de superoxyde :.....	14
3.2.4.3. Réduction de puissance : .....	14
3.2.4.4. Système modèle d'acide b-carotène-linoléique ( $\beta$ -CLAMS) :.....	15
3.2.5. Activité antibactérienne :.....	15
3.2.5.1. Souches bactériennes:.....	15
3.2.5.2. Test de diffusion sur disque : .....	15
3.2.6. Analyse statistique: .....	16

## Chapitre 4

4.1. Composition de l'huile essentielle. ....	17
4.1.1. Résultats .....	17
4.1.2. Discussion :.....	19
4.2. Activité antioxydant : .....	20
4.2.1. Resultants generals: .....	20
4.2.1.1. Capacité de récupération sur radical DPPH.....	21
4.2.1.2. Activité de récupération des radicaux anioniques de superoxyde :.....	21
4.2.1.3. Réduction de puissance .....	22
4.2.1.4. Système modèle d'acide $\beta$ -carotène-linoléique :.....	23
4.3. Activité antibactérienne : .....	23
4.3.1. Résultat : .....	23
4.3.2. Discussion :.....	24
<b>Conclusion</b> .....	25
<b>Références</b> .....	27
<b>Résumé</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Usage médical traditionnel de <i>Origanum majorana</i> .....	5
<b>Tableau 2.</b> Structure des squelettes des polyphénols .....	8
<b>Tableau 3.</b> Matières végétales et extraction d'huiles essentielles .....	12
<b>Tableau 4.</b> Composition en pourcentage de l'huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	17
<b>Tableau 5.</b> Activité antioxydante de l'huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i> .....	20
<b>Tableau 6.</b> Activité antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	24

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> les parties aériennes d'Origanum majorana L. ....	4
<b>Figure 2.</b> Structure générale des flavonoïdes .....	9
<b>Figure 3.</b> Schéma illustrant la biosynthèse des flavonoïdes.....	9
<b>Figure 4.</b> Structure chimique de l'isoprène .....	10
<b>Figure 5.</b> Chromatogramme d'huile essentielle de marjolaine obtenue par hydrodistillation .....	18
<b>Figure 6.</b> Chromatogramme d'huile essentielle de marjolaine (fraction A) .....	19
<b>Figure 7.</b> Chromatogramme d'huile essentielle de marjolaine (fraction C) .....	19

## Liste des abréviations

**O:** origanum

**PAM:** les plantes aromatiques médicinales

**HE:** les huiles essentielles

**CHS:** chalcone synthase

**CHI:** chalcone isomérase

**COA:** coenzyme A

**FS:** flavone synthase

**FNR:** flavanone réductase

**F3H :** flavanone-3-hydroxylase

**FNT $\alpha$  :** facteur de nécrose tumorale  $\alpha$

**IL-1 $\beta$  :** interleukine 1 $\beta$

**IL-6 :** interleukine 6

**IL-10 :** interleukine 10

**COX2:** cyclooxygénase 2

**FN $\kappa$  B:** facteur nucléaire kappa B

**GC-FID:** chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme

**GC -MS:** chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**DPPH:** permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux .

**EC 50:** la concentration effective à laquelle l'absorbance était de 0.5 pour le pouvoir

réducteur .

**IC50:** les doses d'extrait nécessaires pour provoquer une inhibition de 50%.

**SPM:** le syndrome prémenstruel

**NADH:** nicotinamide adénine dinucléotide

**NBT:** nouvelles techniques d'amélioration des plantes

**FeCl<sub>3</sub>:** chlorure ferrique

**BHT:** l'hydroxytoluène butylé

**β-CLAMS:** Système modèle d'acide b-carotène-linoléique

**CHCl<sub>3</sub>:** chloroforme

**UV:** ultraviolet

**CFU:** unité formant colonie

**DMSO:** diméthylsulfoxyde

**Fr:** fraction

**Fe<sup>3+</sup>:** oxyde ferrique

**Fe<sup>2+</sup>:** ion ferrique

# **Introduction**

## Introduction

Depuis des milliers d'années, l'utilisation des plantes médicinales suscite un intérêt croissant à l'échelle mondiale en raison de la reconnaissance croissante des produits naturels et de l'orientation du public vers le slogan « retour à la nature », qui pourrait être plus sécuritaire sans effets indésirables. (Hashem, 2019)

La phyto-aromathérapie concerne l'emploi associé de la phytothérapie (ou thérapeutique par les plantes) et de l'aromathérapie (ou thérapeutique par les essences végétales ou huiles essentielles). (Kabouche, 2005)

Toutes les parties de la plante sont utilisées en phytothérapie. La feuille est la partie la plus employée, celle-ci est le principal lieu de production des hétérosides et des alcaloïdes. La racine contient les sucres et vitamines et parfois des alcaloïdes. La fleur est composée de pigments (tanins et flavonoïdes). (Clementine, 2018)

De tous temps, en tous lieux, notamment dans les pays méditerranéens, les plantes aromatiques médicinales (PAM) représentent une source inépuisable des huiles essentielles (HEs). Celles-ci connues par leurs rôles considérables dans la culture économique de nombreux peuples à travers les âges, que ce soit sur le plan industriel ou médical. (SALHA, 2020)

Les *Lamiacées* constituent une famille très diversifiée avec 224 genres et environ 4000 espèces. Elle est aussi bien répandue dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde. La plus grande diversité est rencontrée selon cet ordre: le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les Iles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine. (kabouche, 2005). La famille de la menthe (lamiacées) comprend les plantes aromatiques largement utilisées à des fins culinaires, médicinales, cosmétiques et ornementales, comme le basilic, le romarin, la sauge, l'origan, la lavande, le thym et la menthe. (Oalde1,2018)

*L'origanum majorana* appartient à la famille des *lamiacées*, est une plante herbacée que l'on trouve dans le sud de l'Europe et la région méditerranéenne, connue sous le nom de marjolaine, peut atteindre 60 cm. *O. majorana* est largement utilisé comme garniture dans la préparation des aliments, ainsi que d'être une plante médicinale utilisée à des fins différentes dans la médecine traditionnelle de différentes régions. Des études sur cette plante ont permis d'identifier un grand nombre de ses composés actifs (Nasser, 2018); Les plus importants de ces constituants bioactifs qui sont principalement des métabolites secondaires sont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles (Tripathy et al., 2016);

qui expliquent ses propriétés biologiques. C'est une plante médicinale aromatique. Une vaste gamme d'activités pharmacologiques, y compris propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, antineurodégénératives et anticancéreuses, antifongique, anti-inflammatoire, antidiabétique... etc (Bouyahya,2017)

L'objectif de notre travail est l'étude de les compositions chimiques et ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Origanum majorana*.

La présente étude inclus deux parties principales :

- La première partie est une synthèse bibliographique qui présente la Généralités sur la plante *Origanum majorana* dans le premier chapitre et les métabolites secondaires et leurs activités biologiques dans le deuxième chapitre.
- La deuxième partie est une étude expérimentale subdivisée en deux chapitres: un chapitre sur les matériels et méthodesde travail et l'autre chapitre sur les résultats obtenus suivie des discussions.
- Enfin conclusion

# **Synthèse**

# **bibliographiques**

**Chapitre 1**  
*Généralités sur la plante*  
*Origanum majorana*

### 1.1. Historique

Le terme origan provient du latin *origanum*, lui-même issu de grec *origanon*. Le terme français apparaît au XIII<sup>ème</sup> siècle. En le décomposant étymologiquement, on trouve oros, la montagne et ganos, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». En effet, l'origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté. (Bouhaddouda, 2016)

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

### 1.2. Taxonomie

**Règne :** Plantes

**Sous-règne :** *Chlorobiontes*

**Infra-règne:** *Streptophytes*

**Super-division :** *Embryophytes*

**Division:** *Trachéophytes*

**Sous-division:** *Spermatophytines*

**Classe:** *Dicotylédones*

**Sous-classe :** *Astériidées*

**Ordre :** *Lamiales*

**Famille:** *Lamiacées*

**Sous-famille :** *Népétoïdées*

**Tribu :** *Mentheae*

**Genre :** *Origanum L.*

**Espèce :** *Origanum majorana L.* (Tripathy et al., 2017)

### 1.3. Dénominations de marjolaine

Anglais–*Marjoram, Sweet marjoram*, Hindi – *Murwa, Sathra*, Kannada – *Maruga, Ourdou - Marwa, marzanjosh*, Arabie saoudite- *Doash*, Portugais– *Manjerona, Mangerona, Manjarona*, Espagnol– *Dulce mejorana*, Français –*Marjolaine*, Allemand- *Majoran,italie – Maggiorana* .(Tripathy et al., 2017)

### 1.4. Description botanique

*Origanum majorana* L., aussi connue sous le nom de *Marjolaine* ou Origan des jardins, est une herbacée qui appartient à la famille des Lamiacées ne dépassant pas 80 cm de haut (Iratni, 2016), qui a des feuilles de 1 à 2 cm de long, opposées, vert grisâtre, ovales entières; ses fleurs sont petites, blanches ou violettes, disposées en groupes axiaux serrés avec deux bractées en forme de cuillère. (Lakhrissi, 2015)

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



**Figure 1.** Les parties aériennes d'*Origanum majorana* L. (Perna et vasudeva, 2015)

### 1.5. Répartition géographique

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par Ietswaart en 1980. (Mahfouf, 2018) Les espèces du genre *Origanum* sont originaires des régions tempérées s'étendant de l'Eurasie à la région méditerranéenne. Ils s'étendent jusqu'aux régions sibériennes et irano-turques. Ils poussent sur des sols calcaires et rocailleux. (Iratni,2016)

### 1.6. Constituants phytochimiques

Les produits végétaux ont gagné en intérêt depuis l'antiquité en raison de leurs applications médicales Ils sont largement utilisés pour traiter la toux, la bronchite, la grippe, le diabète, le cholestérol, les maux de dents, les maux de tête, l'hypertension, etc. (Sharifi-Radet al., 2020)

Différents tests phytochimiques qualitatifs ont montré la présence de flavonoïdes, de tanins, de glycosides, de glycosides cardiaques, de stérols, de terpénoïdes dans l'extrait d'éthanol de feuilles, de racines et de tiges, tandis que la saponine et le carbohydérium sont présents dans l'extrait aqueux respectivement. Les alcaloïdes, les glycosides et les protéines étaient absents dans l'éthanol et l'extrait aqueux de la racine et de la tige. (Tripathy et al., 2017)

La composition en huile de l'O. majorana a montré que le terpinène-4-ol, le cis sabinene hydrate, le p-cymène, le sabinene, le trans-sabinene hydrate et le -terpineol étaient les principaux constituants. (Raina et Negi, 2011)

**Tableau 1.** Usage médical traditionnel de *Origanum majorana* (Sharifi-Radet al., 2020)

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

# **Chapitre 2**

## **Les métabolites secondaires**

### **2.1. Définition**

Les plantes utilisent des molécules organiques pour vivre et se développer « matériaux de construction » issus de leur métabolisme.

On distingue métabolisme primaire et métabolisme secondaire. Le métabolisme primaire, universel dans le monde animal et végétal, fournit les éléments de base à la vie : protéines, glucides, lipides et acides nucléiques. Ces composés sont également la base du métabolisme secondaire. (Deschepper, 2017)

Les métabolites secondaires sont toute substance présente chez un organisme et qui ne participe pas directement au processus de base de la cellule. (Iratni, 2016) Un métabolite secondaire est une molécule, telle que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpenoïdes et les alcaloïdes, que produisent les organismes en dehors des voies métaboliques strictement nécessaires à assurer la survie. (Benaïssa, 2011)

### **2.2. Le rôle de métabolites secondaires**

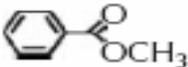
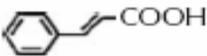
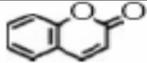
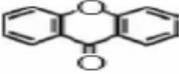
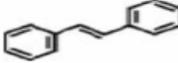
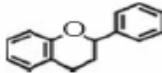
Le rôle de métabolites secondaires est également mis en évidence dans l'adaptation des végétaux. Ils sont impliqués dans le phénomène d'allélopathie. Ce phénomène se définit comme un effet positif ou négatif, direct ou indirect d'une plante sur une autre par le biais des composés libérés dans l'environnement. Leur synthèse est également liée aux différents stades du développement. (Belyagoubi, 2011)

### **2.3. Classification des métabolites secondaires**

#### **2.3.1. Les composés phénoliques**

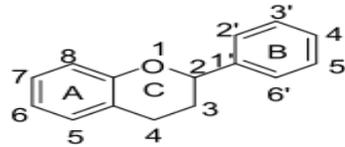
Les composés phénoliques correspondent à un vaste ensemble de molécules qui ont toutes en commun un noyau benzène, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une fonction ester, éther ou hétéroside. (Iratni, 2016)

**Tableau2.**Structure des squelettes des polyphénols. (Belyagoubi, 2011)

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de Base
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides phénols	Acide gallique	
8	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	acétophénones	Gallacetophénone	
8	8C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Acide phénylacétique	Acide hydroxyphénylacétique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinamiques	Acide coumarique	
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Coumarines	Esculitine	
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naphthoquinones	Juglone	
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xanthones	Mangiferine	
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Stilbènes	Resveratrol	
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes	Naringénine	

### 2.3.2. Les flavonoïdes

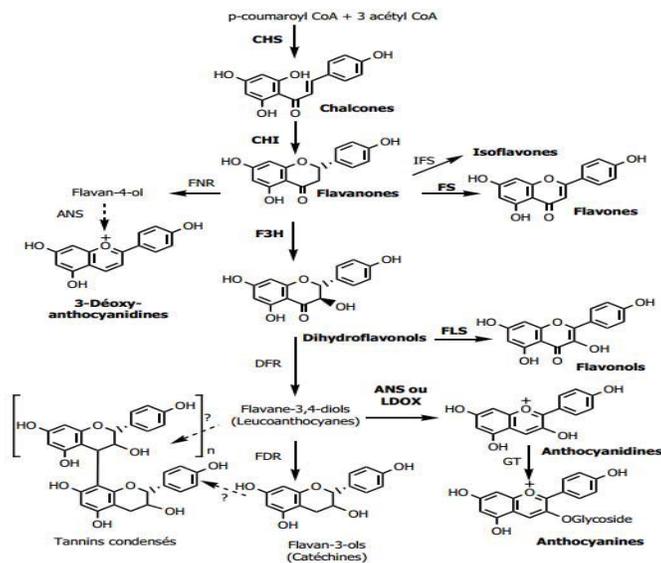
Les flavonoïdes sont des composés phénoliques très connus dans ce genre et jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants. (Benaïssa, 2011) Cette classe contient plusieurs composés chimiques, parmi lesquels : les acides phénoliques, les stilbenes hydroxylés, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones. (Ghnimi, 2015)



**Figure 2.** Structure générale des flavonoïdes (Bouhaddouda, 2016)

### 2.3.2.1. Biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun qui est la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Le passage de chalcone en flavonoïde se fait par plusieurs étapes comme la méthylation, la glycosylation et l'acylation. L'enzyme clé de la biosynthèse c'est la chalcone synthase (CHS) qui catalyse la condensation de trois unités acétate à partir de malonyl-CoA avec la 4-coumaroyl-CoA. L'isomérisation des chalcones par la chalcone isomérase (CHI) conduit à la formation des flavanones. Ces derniers vont subir soit une oxydation par la flavone synthase (FS) et donnent les flavones, soit une réduction par la flavanone réductase (FNR) et donnent des flavanols. Tandis que l'hydroxylation des flavanones par la flavanone-3-hydroxylase (F3H) donne des dihydroflavonols qui peuvent s'oxyder en flavonols par la flavonol synthase. (Ghniimi, 2015)



**Figure 3.** Schéma illustrant la biosynthèse des flavonoïdes. (Ghniimi, 2015)

### 2.3.3. Tannin

Les tannins (ou tanins) sont des composés polyphénoliques utilisés pour tanner les peaux. Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antioxydants. (Ghnimi, 2015)

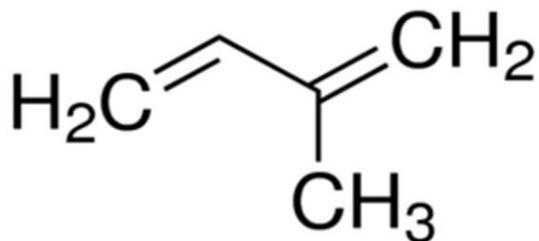
On distingue différentes classes de tanins :

-**Les tanins hydrolysables** : ce sont des hétérosides polyphénoliques issus de la combinaison d'un sucre estérifié par un nombre variable de molécules d'acides phénoliques (acide gallique, acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés). (Berreghioua, 2016)

-**Les tannins condensés** : donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines. Ces tannins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils se transforment en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation en substances rouges qui sont les phlobaphènes. (Ghnimi, 2015)

### 2.3.4. Terpène

Les terpènes sont des constituants hydrocarbures formes par la condensation de deux ou plusieurs unités isoprénique. Les terpènes sont des structures très diverse .Ils peuvent être acyclique, monocyclique ou bicyclique. (Chenni, 2016) Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprène en monoterpène formés de deux isoprènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>), en sesquiterpènes, formés de trois isoprènes (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>), en diterpènes, formés de quatre isoprènes (C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>), en tétraterpènes, huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes, en polyterpènes (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> où n peut-être de 9 à 30. Les terpénoïdes sont les terpènes dérivées des composés ayant un ou plusieurs groupes chimiques fonctionnels (alcool, aldéhyde, cétone, acide, ...). (Bagora, 2014)



**Figure 4.** Structure chimique de l'isoprène (Bouhaddouda, 2016)

## **2.4. Activités biologiques d'*Origanum majorana***

### **2.4.1. Activité antioxydant**

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

### **2.4.2. Antibactérien**

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

### **2.4.3. Antidiabétique**

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

### **2.4.4. Antifongique**

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

### **2.4.5. activité anti-inflammatoire**

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

# **Partie Expérimental**

# **Chapitre 3**

## **Matériel & Méthodes**

### 3. Matériels et méthodes

#### 3.1. Matériels végétales

**Tableau 3.** Matières végétales et extraction d'huiles essentielles

Source du plant	Partie utilisé du plant	Méthode d'extraction	Le rendement	Référence
<i>Origanum majorana</i> a été recueilli à San Isidro de Apartaderos, une ville située à 3440 mètres d'altitude dans l'État de Mérida, au Venezuela	Feuilles fraîches (500 g)	hydrodistillation	0.6%	(Ramos et al., 2011)
Des plants de marjolaine ( <i>Origanum majorana</i> ) ont été fraîchement récoltés dans la région montagneuse de Zaghouan, en Tunisie, en juin 2012 (altitude ¼ 500 m).	La partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) (100 g)		1.85%	(Hajlaoui et al., 2016)

#### 3.2. Méthode

##### 3.2.1. Fractionnement d'huile essentielle

L'huile (2 g) a été traitée sur une colonne sèche de silice. Une colonne en plastique de 1,0 pouce de largeur a été remplie de gel de silice (Merck, maille 230-400). L'hexane a été ajouté jusqu'à ce que le solvant atteigne la partie inférieure de la colonne, qui a ensuite été coupée sur la longueur en cinq parties égales. (Ramos, 2011)

Les morceaux ont été étiquetés du haut vers le bas (A-E). La silice de chaque portion a été extraite deux fois avec 10 ml d'éther diéthylique et filtrée. Chaque portion a ensuite été traitée pendant 12 h avec 20 ml d'acétate d'éthyle. Toutes les fractions ont ensuite été concentrées à un volume de 1,0 ml et entreposées pour analyse ultérieure. (Ramos, 2011)

### 3.2.2. Analyse GC-FID

L'analyse GC-FID a été effectuée sur un chromatographe en phase gazeuse Perkin-Elmer Auto System équipé d'une colonne capillaire en silice fondue à 5 % de phénylméthylpolysiloxane (AT-5, Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, 60 m x 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm). La température initiale du four était de 60 °C, puis elle a été chauffée à 260 °C à 4 °C/min, et la température finale a été maintenue pendant 20 min. Les températures de l'injecteur de la colonne et du détecteur étaient de 200 °C et de 250 °C, respectivement, et le gaz porteur était He à 1,0 mL/min. Un échantillon de 1,0 ml a été injecté selon un rapport fractionné de 1:10. Les indices de rétention ont été calculés par rapport aux n-alcanes C 8-C24 et comparés aux valeurs rapportées dans la littérature. (Ramos, 2011)

### 3.2.3. Analyse GC /MS

L'analyse GC/MS a été effectuée sur un système GCMS Hewlett Packard, modèle 5973, muni d'une colonne de silice fondue de 30 m de long, réticulée à 5 % de phénylméthylpolysiloxane (HP-5MS, Hewlett Packard, États-Unis) (0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm). Les conditions de température du four étaient les mêmes pour l'analyse GC-FID. Température de la source 230°C ; température du quadropôle, 150°C ; gaz porteur Il s'est réglé à une vitesse linéaire de 34 cm/s ; énergie d'ionisation, 70 eV ; plage d'acquisition, 40-500 amu ; 3,9 scans/s. Le volume injecté était de 1,0 mL de solution à 2 % d'huile dans le n-heptane. (Ramos et al., 2011) Un injecteur Hewlett-Packard ALS a été utilisé avec un rapport de fractionnement de 1:100. L'identification des composantes était fondée sur une bibliothèque de données de Wiley MS (6e éd.), suivie de comparaisons des données de MS avec la littérature publiée. (Torres-Barajas, 2013)

### 3.2.4. Activité antioxydante

#### 3.2.4.1. Capacité de récupération sur radical DPPH

La méthode de Hanato et al 19 a été utilisée pour mesurer la capacité de trempe de l'HE. 1mL d'huile extraite à des concentrations connues, a été ajouté à 0,25 ml d'un DPPH, solution méthanolique. Le mélange a été agité vigoureusement et laissé au repos à température pendant 30 min à l'obscurité. L'absorbance de solution a été mesurée à 517 nm pour déterminer les valeurs correspondant à la capacité des extraits à réduire le radical stable DPPH en diphenylpicrylhydrazine de couleur jaune. (Hajlaoui et al., 2016)

L'activité antiradicalaire a été exprimée en valeurs IC<sub>50</sub> (mg/ml). Une valeur IC<sub>50</sub> inférieure correspond à une activité antioxydant plus élevée de l'extrait de plante. La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée à l'aide d'équation suivante :

$$\text{Effet de récupération des DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100$$

A<sub>0</sub> : l'absorbance de contrôle à 30 min, A<sub>1</sub> : l'absorbance de l'échantillon à 30 min . Tous les échantillons ont été analysés en triple. (Hajlaoui et al., 2016)

#### **3.2.4.2. Activité de récupération des radicaux anioniques de superoxyde**

Le superoxyde a été construit dans un système non enzymatique. le mélange réactionnel, qui contiait de l'extrait (0-0.4mg) dans l'eau distillée, du PMS (0.2 ml , 60 Kmol /L) dans du tampon phosphate (0.1mol/l , PH=7.4), 0.2ml de NADH (677Kmol) dans tampon phosphate et NBT (0.2ml, 144Kmol/L) dans tampon phosphate , a été incubé à température ambiante pendant 5min , l'absorbance a été lue à 560 nm contre de échantillons tous les échantillons ont été analysés en triple. (Duh, 1999)

L'activité antioxydante a été évaluée sur la base des valeurs IC 50. Le pourcentage d'inhibition de la génération d'anions superoxydes a été calculé à l'aide de la formule suivante  
Trempe de superoxyde (%) = [(A<sub>0</sub> - A<sub>1</sub>) \* 100] / A<sub>0</sub>

A<sub>0</sub> : l'absorbance de contrôle à 30 min, A<sub>1</sub> : l'absorbance de l'échantillon à 30 min. (Hajlaoui et al., 2016)

#### **3.2.4.3. Réduction de puissance**

Réduction de puissance a été testé par la méthode d'Oyaizu (1986). l'extrait ou l'étalon (100ug /ml) a été mélangé au tampon phosphaté et au ferricyanide de potassium le mélange été incubé à 50 C pendant 20 min. L'acide trichloroacétique (10% ,2.5ml) a été ajouté au mélange. Une partie du mélange obtenu a été mélangée avec de FeCl<sub>3</sub> (0.1% ,0.5ml) et l'absorbance a été mesurée à700 nm. (Akinmoladun et al., 2007)

La moyenne des valeurs d'absorbance a été comparée aux valeurs de concentration, et une analyse de régression linéaire a été effectuée. L'absorbance accrue du mélange réactionnel indique une puissance de réduction accrue. Le CE<sub>50</sub> (mg/ml) est la concentration efficace à laquelle l'absorbance était de 0,5 pour réduire la puissance. Le BHT et l'acide ascorbique ont été utilisés comme témoin positif (Hajlaoui et al., 2016).

#### **3.2.4.4. Système modèle d'acide b-carotène-linoléique ( $\beta$ -CLAMS)**

Dans cette étude  $\beta$ -CLAMS a été modifié pour le lecteur de microplaques à 96 puits. le  $\beta$ -carotène a été dissous dans 2 ml of  $\text{CHCl}_3$ , auxquels ont été ajouté 20mg d'acide linoléique et 200 mg de tween.  $\text{CHCl}_3$  a été éliminé à l'aide d'un évaporateur. De l'eau oxygénée (100 ml) a été ajoutée et le ballon a été secoué vigoureusement jusqu'à ce que tout le matériel se soit dissous. Ce mélange a été préparé frais et utilisé immédiatement. Dans chaque puits, 250ml du mélange et 35 ml d'échantillon ou de solution standard ont été ajoutés. (Hajlaoui et al., 2016)

La plaque a été incubée à 45° C. les lectures ont été effectuées immédiatement ( $t=0\text{min}$ ) et après 120 min d'incubation à 490 nm, en utilisant un lecteur de microplaque visible/UV (EL\*808 instrument BioTek). L'activité antioxydante (AA) (%) =  $[(A_0 - A_1) / A_0] * 100$   
 $A_0$  absorbance à 0 min,  $A_1$  absorbance à 120 min. Tous les échantillons ont été analysés en triple. (Hajlaoui et al., 2016)

#### **3.2.5. Activité antibactérienne**

##### **3.2.5.1. Souches bactériennes**

L'huile essentielle et ses fractions ont été dosées pour leur activité antibactérienne. Les souches utilisés étaient *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Escherichia coli* (ATCC 25992) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357). (Ramos et al., 2011)

##### **3.2.5.2. Test de diffusion sur disque**

L'activité antibactérienne a été réalisée selon le test de diffusion sur disque décrit par Rondón et al (Rondon et al., 2006). Les souches ont été maintenues en gélose à température ambiante. 0,5 ml de chaque inoculum bactérien a été dilué dans une solution saline stérile à 0,85% pour obtenir une turbidité visuellement comparable à celle d'un étalon McFarland N° 0,5 (106-8 CFU/mL). (Ramos et al., 2011).

Chaque inoculum a été étalé sur des plaques contenant de la gélose Mueller-Hinton et un disque filtre en papier (4 mm) saturé à la fois de 10 L d'huile essentielle et des deux fractions. Les plaques ont été laissées 30 min à température ambiante puis incubées à 37°C pendant 24 h. La zone inhibitrice autour du disque a été mesurée et exprimée en mm. Un contrôle positif a également été dosé pour vérifier la sensibilité des organismes testés à l'aide des antibiotiques (Rondon et al., 2006) suivants : Ampicilline, Pipéracilline et Amikacine (Ramos et al., 2011). Un contrôle négatif a également été inclus dans le test en utilisant un disque de papier filtre saturé de

DMSO pour vérifier l'activité éventuelle de ce solvant contre les bactéries testées. Les expériences ont été répétées deux fois. (Rondon et al., 2006)

### **3.2.6. Analyse statistique**

Toutes les expériences ont été effectuées en trois exemplaires, et les valeurs moyennes ont été calculées à l'aide du progiciel statistique SPSS. Les différences dans les moyennes ont été calculées à l'aide des tests à plusieurs échelles de Duncan pour les moyennes ayant un intervalle de confiance de 95 % (P 0,05). (Hajlaoui et al., 2016).

# **Chapitre 4**

## **Résultats & Discussion**

## 4.1. Composition de l'huile essentielle

### 4.1.1. Résultats

Les feuilles d'*Origanum majorana* ont produit 3,1 ml d'huile, ce qui équivaut à un rendement de 0,6 %. Il a été possible d'identifier 25 composants. Le tableau montre la composition en pourcentage de l'huile essentielle. (Ramos et al., 2011).

**Tableau 4.** Composition en pourcentage de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* L. (Ramos et al., 2011).

Pic	Constituants	Huil %	Fr. A	Fr.C	RI	RI <sub>lit</sub>
1	Acétate de butyle	T	1.2		805	812
2	$\alpha$ -Thujene	0.2			928	931
3	Sabinène	1.4			974	976
4	Myrcène	0.5			989	991
5	$\alpha$ -Terpinène	3.6			1017	1018
6	p-Cymène	2.4			1025	1026
7	$\beta$ -Phellandrene	1.5			1030	1031
8	$\gamma$ -Terpinene	7.2			1060	1062
9	Trans-Sabinene hydrate	4.4	5.1	3.2	1069	1065
10	$\alpha$ -Terpinolène	2.0			1089	1088
11	cis-Sabinène hydraté	30.2	67.6	9.9	1100	1098
12	<i>cis</i> -para-Menth-2-en-1-ol	2.0	2.1	1.7	1125	1121
13	<i>trans</i> -para-Menth-2-en-1-ol	1.1	2.0		1144	1140
14	Endo-Bornéo	0.4			1172	1165
15	Terpinen-4-ol	28.8	9.5	72.8	1185	1177
16	$\alpha$ -Terpinéol	6.9	11.4	2.6	1196	1189
17	<i>cis</i> -Piperitol	0.5			1200	1193
18	<i>trans</i> -Piperitol	0.5			1213	1205
19	Geranio	T	1.1		1260	1255
20	Acétate de linalol	3.9		8.2	1262	1257
21	Eugénol	0.3			1362	1356
22	Acétate de neryle	0.3			1369	1365

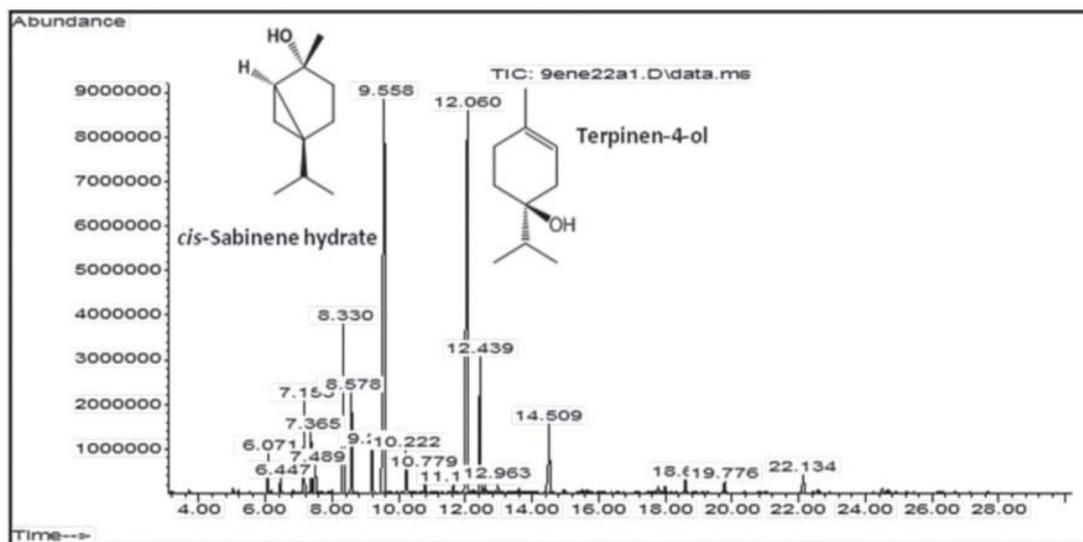
23	Acétate de geranyl	0.6		1.6	1387	1383
24	Trans-caryophyllène	0.6			1427	1418
25	Bicyclogermacrène	1.0			1508	1494

RI : Les indices de rétention ont été déterminés par GC sur une colonne HP-5.

t : traces (< de 0,1 %)

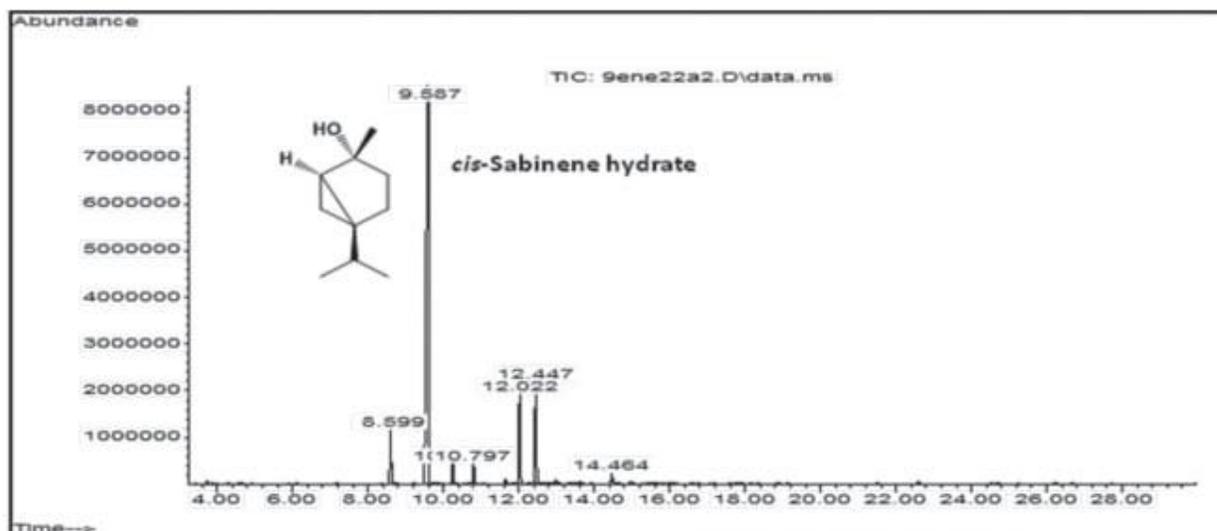
Les résultats de l'analyse de l'huile essentielle ont montré que les principaux composants de *O. majorana* sont l'hydrate de cis-sabinene (30,2 %), le terpinène-4-ol (28,8 %), le  $\gamma$ -terpinène (7,2 %), l' $\alpha$ -terpinéol (6,9 %), l'hydrate de trans-sabinene (4,4 %), l'acétate de linalool (3,8 %) et l' $\alpha$ -terpinène (3,6 %). (Ramos et al., 2011).

Le fractionnement de l'huile sur la colonne sèche du gel de silice a permis d'isoler le cis-sabinene-hydrate (67,6 %) sur la fraction A (Fr. A) et le terpinène-4-ol (72,8 %) sur la fraction C (Fr. C) (figures 1, 2 et 3). (Ramos et al., 2011).



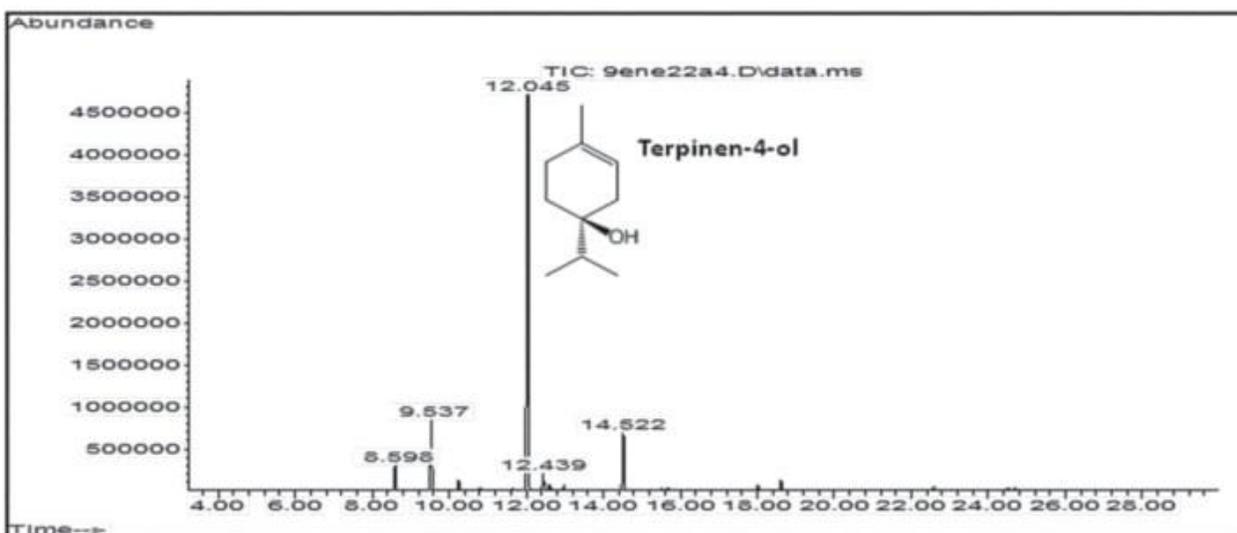
**Figure 5.** Chromatogramme d'huile essentielle de marjolaine obtenue par hydrodistillation

(Ramos et al., 2011)



**Figure 6.**Chromatogramme d'huile essentielle de marjolaine (fraction A)

(Ramos et al., 2011)



**Figure 7.**Chromatogramme d'huile essentielle de marjolaine (fraction C)

(Ramos et al., 2011).

#### 4.1.2. Discussion

Le rendement en huile essentielle d'*O. majorana* (0,6%) obtenu dans cette étude, Le rendement des plantes *O. majorana* cultivées dans une pépinière située à Soliman dans le nord-

est de la Tunisie a été constaté entre 0,04% à 0,09% , mais celui obtenu à partir d'une espèce de pays indien est d'environ 1,7%. (El-Akhal et al., 2014)

Une étude antérieure réalisée sur l'*O. majorana* recueilli dans le jardin de plantes médicinales de la Faculté de pharmacie (20) a révélé que l'huile contenait 3-ciclohexen-1-ol (41,7 %) et cis-sabinene-hydrate (14,8 %) comme principaux composants. Différents résultats obtenus dans cette étude pourraient être attribués aux différences climatiques puisque le jardin de plantes médicinales est situé à une altitude de 1400 m au-dessus du niveau de la mer. (Ramos et al., 2011).

## 4.2. Activité antioxydant

### 4.2.1. Résultats générales

L'HE a été soumis à un dépistage de l'activité antioxydante possibles au moyen de quatre méthodes colorimétriques complémentaires, à savoir le DPPH, l'activité de trempe des superoxyde, la puissance de réduction, et les essais de  $\beta$ -carotène. Les résultats obtenus ont été comparés aux normes de référence BHT. Les résultats sont présentés aux Tableau et sont exprimés en valeurs CI50. (Hajlaoui et al., 2016)

**Tableau 5.** Activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Origanum majorana*(Hajlaoui et al., 2016)

	Huile essentielle d' <i>O majorana</i>	BHT
DPPH (IC50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ )	62.66 $\pm$ 2.08	11.5 $\pm$ 0.62
Activité de trempe de superoxyde (IC50 $\mu\text{g ml}_1$ )	1.66 $\pm$ 0.76	1.5 $\pm$ 0.2
Reducing power (EC50 $\mu\text{g}/ \text{ml}$ )	2.5 $\pm$ 0.28	23 $\pm$ 1
$\beta$ -carotène (IC50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ )	12.83 $\pm$ 1.04	75 $\pm$ 1

Les moyennes (trois répétitions) suivies d'au moins une même lettre ne sont pas significativement différent à  $P < 0,05$ . (Hajlaoui et al., 2016)

#### 4.2.1.1. Capacité de récupération sur radical DPPH

##### Résultat

Les résultats ont révélé que l'HE d'*O.majorana* présentait un faible récupération des radicaux DPPH, avec une valeur de CI50 de  $62.66 \pm 2.08 \mu\text{g} / \text{ml}$  était inférieure à celle des agents standard le BHT ( $11.51 \pm 0.62 \mu\text{g} / \text{ml}$ ). (Hajlaoui et al., 2016)

##### Discussion

Le DPPH est méthode simple et utile pour montrer la présence de potentiel antioxydant dans l'extrait. Le DPPH mesure l'activité d'un antioxydant pour récupérer directement le DPPH en déterminant par spectrophotométrie à 515 nm, les résultats peut être retracé à l'activité plus faible du composant principale terpinen-4-ol. (Hajlaoui et al., 2016)

Les résultats ont été révélé les activités antioxydantes des extraits et composés isolés d'*O.majorana* et identifie le composé responsable de l'activité dans l'extrait de plante. (Erenler et al., 2014)

L'extrait d'*O. majorana* a montré des valeurs de CI50 pour l'activité de balayage radicale a été trouvé pour être 2.308 mg/ml, cette activité pourrait être associée à des composés phénoliques comment ils ont joué un rôle important dans la peroxydation lipidique de stabilisation des travaux antérieurs ont révélé que les huiles essentielles d'*O.majorana* présentaient une activité antioxydante élevée. (Ennaji, 2020)

#### 4.2.1.2. Activité de récupération des radicaux anioniques de superoxyde

##### Résultat

Les résultats ont montré que les activités d'extracteur d'anions superoxydes de l'HE exprimé par IC 50, étaient similaires à celle de l'antioxydant standard BHT ( $1,66 \pm 0,76 \mu\text{g} / \text{ml}$  pour l'HE et  $1.5 \pm 0.2 \mu\text{g} / \text{ml}$  pour le BHT). (Hajlaoui et al., 2016)

##### Discussion

Les anions superoxydes sont récupérés par des antioxydants et conséquemment diminuent, voire inhibent, l'autoxydation pyrogallole. Ceci pourrait être attribue l'action 'un groupe hydroxyle libre. (Hajlaoui et al., 2016)

Le radicale anion superoxyde soit un oxydant faible, il donne lieu à la génération de radicaux hydroxyles plus puissants et dangereux ainsi que d'oxygène singulet, qui contribuent tous deux au stress oxydatif. L'avantage de ce dernier méthode pour la détermination de

l'activité de piégeage des radicaux anions superoxyde est la simplicité d'interprétation des résultats. (Tumas et al., 2010)

les différents mécanismes expérimentaux ont été utilisés car on sait qu'un antioxydant peut agir à la fois pendant la phase d'initiation et pendant la phase de propagation du processus peroxydant. Dans la phase d'initiation, il pourrait neutraliser ou inhiber la formation de radicaux libres d'oxygène (anion de superoxyde ou radical hydroxyle) et d'autres radicaux. L'antioxydant pourrait également agir sur les réactions catalysées par les métaux de transition, soit par chélation soit en altérant leur état oxydatif. L'activité des extraits d'origan a été comparée à l'activité des antioxydants standards couramment utilisés par d'autres chercheurs. (Cervato et al., 2000)

#### **4.2.1.3. Réduction de puissance**

##### **Résultat**

Les résultats ont révélé que les HE inhibaient la formation de complexe ferrozine  $Fe^{+2}$  de manière dose dépendante, avec des valeurs  $EC_{50}$  de  $2,52 \pm 0,28$ , ce qui était environ neuf fois plus faible que le BHT  $23 \pm 1$ . (Hajlaoui et al., 2016)

##### **Discussion**

Ce test est basé sur la transformation de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  en présence d'HE (hafe) et montre la couleur spécifique en présence d'un potentiel antioxydant dans les extraits. En présence d'un réducteur approprié  $Fe^{3+}$  est réduit en forme  $Fe^{2+}$ . Ces résultats montrent uniquement le donneur d'électrons présent dans les extraits. (Dhull et al., 2016)

En plus, réduire la puissance est un mécanisme important impliqué dans la voie antioxydante. Ces derniers sont capables de donner un électron aux radicaux réactifs, les réduisant en espèces plus stables et non actives donc la forte puissance de réduction pourrait être due à leur capacité de donner des électrons de composés phénoliques. (Saci et al., 2019)

En outre, la capacité de réduction de l'extrait indique qu'il a un potentiel antioxydant important. Les composés antioxydants dans les extraits sont capables de donner des électrons aux radicaux qui sont réduits à des espèces plus stables et non actives. Le pouvoir réducteur des extraits a été étudié par un essai de transformation de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ . (Erenler et al., 2017)

#### 4.2.1.4. Système modèle d'acide $\beta$ -carotène-linoléique

##### Résultat

Les résultats ont révélé une valeur de CI50 de  $12,83 \pm 1,04 \mu\text{g} / \text{ml}$  qui était environ six fois plus faible que la antioxydant standard BHT ( $75 \pm 1 \mu\text{g} / \text{ml}$ ). (Hajlaoui et al., 2016)

##### Discussion

Le teste de l'acide  $\beta$ -carotène linoléique mesure l'inhibition des composés organique volatils et basée sur la décoloration du  $\beta$ -carotène par les peroxydes résultants de l'oxydation de l'acide linoléique. (Hajlaoui et al., 2016)

La méthode de blanchiment du  $\beta$ -carotène est phénomène à médiation radicaux libres résultant des hydroperoxydes formés à partir d'acide linoléique. ( Chidambara et al., 2003)

L'effet d'inhibition de l'HE est présenté dans le tableau . Ces résultats ont indiqué que la présence de composés phénoliques dans l'HE d' *O.majorana* empêchait en grande partie le blanchiment du  $\beta$ -carotène. (Hajlaoui et al., 2016)

Par ailleurs, ces constatation expliquent que la diversité et la variation des extraits peut entraver l'étendue du blanchiment du  $\beta$ -carotène en neutralisant le radical libre de linoléine et d'autre radicaux libre formés dans le système. (Chidambara et al., 2003)

Egalement, les composés phénoliques contribuent aux activités antioxydantes globales des herbes et des épices. Les mécanismes des compose phénolique pour l'activée antioxydant inactivent les radicaux libre lipidique et empêche la décomposition des hydroxydes en radicaux libre (Mayachiew et al., 2008).

La présence de différents antioxydant peut empêcher le blanchiment du  $\beta$ -carotène en neutralisant le radical sans linoléique et d'autres radicaux libres formés dans le système (Tosun et al., 2009).

#### 4.3. Activité antibactérienne

##### 4.3.1. Résultat

La méthode de diffusion sur disque de l'agar a été utilisée pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle. ( Stefanakis et al., 2013) Les souches ATCC Gram positif et Gram négatif ont été utilisées. Ces résultats sont présentés au tableau II. Nos résultats confirment l'activité constatée lors d'études précédentes (Ramos et al., 2011).

**Tableau 6.** Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* L. (Ramos et al., 2011)

Souches bactériennes	Zone d'inhibition (mm)							
	Controle							
	Huil	1:10	Fr.A	Fr.C	AN	AM	PRL	DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	16	-	13	-	34			-
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	12	-	23	13	30			-
<i>Esherichia coli</i> (ATCC 25992)	15	9	13	10			32	-
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC 23357)	13	-	28	-		32		-

Zone d'inhibition, diamètre mesuré en mm, diamètre du disque 4 mm. moyenne de deux essais consécutifs.

**AN** : ampicilline (10 µg); **AM** : amikacine (30 µg); **PRL** : pipéracilline (8 µg)

La fraction A et l'huile totale étaient actives contre toutes les bactéries analysées, mais la fraction A était deux fois plus active contre *E. faecalis* ATCC 19433 et *K. pneumoniae* ATCC 23357. Par contre, la fraction C n'était active que contre *E. faecalis* ATCC 19433 et *E. coli* ATCC 25992 et, en général, elle était moins active que l'huile totale.(Ramos et al., 2011).

#### 4.3.2. Discussion

La fraction A, qui a été enrichie en chromatographie dans l'hydrate de cis-sabinène, est plus active probablement parce que le groupe OH est à côté d'un méthyle alors que le terpinène-4-ol, qui est le principal composant de la fraction C, a un groupe isopropyle à côté de l'OH. Étant donné que la fraction A présentait l'activité la plus importante, il a été conclu que l'hydrate de cissabinene était la substance responsable de cette activité antibactérienne(Ramos et al., 2011).

# **Conclusion**

Plusieurs plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes et antioxydantes, L'origanum majorana considéré comme une plante aromatique caractérisée par ces propriétés thérapeutiques.

Nous concluons que, l'extraction de l'HE d'O. majorana par hydrodistillation a donné des rendements différents selon les pays, L'analyse de l'HE d'Origanum majorana par GC-MS a montré qu'elles renferment des composés majeurs comme: l'hydrate de cis-sabinène (30,2 %), le terpinène-4-ol (28,8 %), le  $\gamma$ -terpinène (7,2 %), l' $\alpha$ -terpinéol (6,9 %), l'hydrate de trans-sabinène (4,4 %), l'acétate de linalool (3,8 %) et l' $\alpha$ -terpinène (3,6 %).

L'étude de l'activité antioxydante a montré que l'huile essentielle d'O majorana présentait une activité élevée, à travers le pouvoir reducteur et blanchiment au  $\beta$ -carotène et l'activité de piégeage des radicaux anion superoxide, induisant des valeurs IC50 plus élevées que le BHT

L'étude de l'activité antibactérienne de l'HE l'O. majorana par la méthode de diffusion sur disque de l'agar montre que l'hydrate de cis-sabinène et l'huile totale étaient actives contre toutes les bactéries analysées, mais l'hydrate de cis-sabinène était deux fois plus active contre E. faecalis ATCC 19433 et K. pneumoniae ATCC 23357. Par contre, la fraction C n'était active que contre E. faecalis ATCC 19433 et E. coli ATCC 25992 et, en général, elle était moins active que l'huile totale. On conclure que la fraction riche en hydrate de cis-sabinène était plus active que celle riche en terpinène-4-ol.

les résultats du dépistage présentés dans cette étude suggèrent que l'OE d'O. majorana possède des propriétés antioxydantes et antibactériennes, ce qui constitue un solide soutien à leur candidature prometteuse pour une utilisation future comme agents naturels dans diverses applications, y compris la conservation des aliments, les préparations cosmétiques, les compositions dermatologiques et pharmaceutiques et les produits médicaux ou thérapeutiques. De plus, des tests phytochimiques supplémentaires in vivo sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de l'huile, et donner plus de détails sur ses différentes activités biologiques potentielles comme antidiabétiques, anticoagulants, anti-inflammatoires, analgésique, ... et ses mécanismes d'action.

# **Références bibliographiques**

**Bibliographie**

## A

- Akinmoladun A. C., Ibukun E. O., Dan-Ologe I. A. (2007). Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of *Chromolaena odorata*. *Scientific research and essays*2(6): 191-194.

## B

- Ben Salha G. 2020. Déterpénation de l'huile essentielle d'*Origanum Majorana* L. et évaluation des activités biologiques. Thèse de doctorat , Université de Tunis El Manar, Tunis,133p.
- Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y., N. Dakka.2017. Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie* : 1-5.
- Benaissa O.2011.Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*. . Thèse de doctorat, universite mentouri constantine, 233p.
- Belyagoubi. 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat d'état, *Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen*, Algérie, 108p.
- Bouhaddouda N. 2016. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local :*Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat , Université d' Annaba, Algerie, 167p.
- Berreghioua A. 2016. Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae Médicinales Du Sud Algerien :*Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. Thèse de doctorat, Université Aboubakr Belkaid –Tlemcen, Algerie, 201p.
- Bagora B. 2014. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal, 607p.
- Bina F., Rahimi R. 2017. Sweet Marjoram: A Review of Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Biological Activities. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 22(1) : 175-185

## C

- Clementine B.2018.Lamiaceae :Caracteristiques Et Interets Therapeutiques a L'Officine. Thèse de doctorat , Université Toulouse III Paul Sabatier, Emérites,150p.
- Chenni M , 2016. Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilique « *ocimum basilicum L* » extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat, Université d'Oran 1 Ahmed Benbella, Algerie, 166p.
- Chidambara Murthy K.N., Pharm M., Vanitha A. , Mahadeva Swamy M.Sc., M., Ph.D., Ravishankar G.A., Ph.D..2003. Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Cissus quadrangularis L*.Journal of Medicinal Food 6( 2): 99-105.
- Cervato G., Carabelli M., Gervasio S., Cittera A., Cazzola R., Cestaro, B. (2000). Antioxbdant properties of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. *Journal of Food Biochemistry* 24(6): 453-465.

D

- Deschepper R .2017. Variabilité de La Composition Des Huiles Essetieles et Intérêt de la Notion De Chémotype En Aromathérapie. Thèse de doctorat, Aix Marseille Université , Marseille,143p.
- Duh P. D., Tu Y. Y., Yen G. C. (1999). Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium Ramat*). *LWT-Food Science and Technology* 32(5):269-277.
- Dhull S. B., Kaur P., Purewal S.S. 2016. Phytochemical analysis, phenolic compounds,condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts : 1-7

E

- 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. Morocco. *Open J Biol Sci* 5(1): 53-59.
- Erenler R., Meral B., Sen O., Elmastas M., Aydin A., Eminagaoglu O., Topcu G. 2017 .Bioassay-guided isolation, identification of compounds from *Origanum rotundifolium* and investigation of their antiproliferative and antioxidant activities. *Pharmaceutical Biology* 55(1):1646–1653.

- El-Akhal F., Lalami A.E., Zoubi Y.E., Greche H., Guemmouh R. 2014. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum majorana* (Lamiaceae) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(9): 746-750
- Erenler R., Sen O., Aksit H., Demiratas I., Yaglioglu A.S., Elmastas M., Telci I. 2015. Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities. *Research Article* 96:822-836.

G

- Ghnimi W. 2015. Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxidante et de leur action inhibitrice sur l'activité l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat, Université De Lorraine (France) Et Université De Carthage (Tunisie), France, Tunisie, 224p.

H

- Hashem M. A., Ismail H.T. H., Hassan E. H. M. 2019. Protective Effect of *Angelica sinensis* Extract and *Origanum majorana* Oil on Hepatic and Renal Toxicities Induced by Nickel Chloride in Male Albino Rats. *Zagazig Veterinary Journal* 47 (3): 306-316.
- 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. *Microbial Pathogenesis* 95 :84-94.

K

- Kabouche A. 2005. Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. Thèse de doctorat, UNIVERSITE MENTOURI-CONSTANTINE, Algérie, 310 p.

L

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

M

- Muqaddas, Khera R. A., Nadeem F., Jilani M.I. (2016). Essential Chemical Constituents and Medicinal Uses of Marjoram (*Origanum majorana* L.). *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* 9 : 56-62.
- Mayachiew P., Devahastin S. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *LWT* 41: 1153–1159.
- Mahfouf N. 2018. Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse de doctorat, Université Chadli Benjedid-El Tarf, Algérie, 201p.

N

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

O

- Oalde M., Živković J., Šavikin K., Marin P. D. 2018. Antineurodegenerative, antioxidant and antibacterial activities and phenolic components of *Origanum majorana* L. (Lamiaceae) extracts. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 91:126 – 134.

P

- Pererna ., Vasudeva N. 2015. *Origanum majorana* L. phyto-pharmacological review. *Indian Journal of Natural Products and Resources* 6(4) : 261-267.
- Tripathy B., Satyanarayana S., Khan K.A., Raja K., Mohanty C. 2016. Phytochemical Screening and Antifungal Activity of Ethanol and Petroleum-Ether Leaf Extracts of *Origanum Majorana*. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences* 4(4):1320-1323.

R

- Raina A.P., Negi K.S. 2011. Essential Oil Composition Of *Origanum majorana* and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* Growing In Indian. *Chemistry of Natural Compounds* 47(6) :1015-1017.
- Ramos S., Rojas L. B., Lucena M. E., Meccia, G., Usubillaga A. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum majorana* L. essential oil from the Venezuelan Andes. *Journal of Essential Oil Research* 23(5): 45-49.
- Rondon M. A. R. Í. A., Velasco J., Hernandez J. O. H. A. N. N. A., Pecheneda M., Rojas J. A. N. N. E., Morales A. N. T. O. N. I. O., Diaz T. U. L. I. A. (2006). Chemical

composition and antibacterial activity of the essential oil of *Tagetes patula* L.(Asteraceae) collected from the Venezuela Andes. *Revista Latinoamericana de Química*34(1/3): 32.

S

- Sharifi-Rad M., Yilmaz B.Y., Antika G.,Salehi B.,Tumer T.B.,Venil C.K.,DasG., PatraJ.k., Karazhan N., Akram M.,Iqbal m.,Imran M.,Sen S., Acharya K., Dey A., Sharifi-Rad J.2020. Phytochemical constituents, biological activities, and health-promoting effects of the genus *Origanum* . *Phytotherapy Research*. 1-27.
- Saci F., Bachir bey M., Louaileche H., Gali L., Bensouici Ch. 2019. Changes in anticholinesterase, antioxidant activities and related bioactive compounds of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) during ripening stages. *Journal of Food Measurement and Characterization*:1-9.
- Stefanakis M.K., Touloupakis E., Anastasopoulos E., Ghanotakis D., Katerinopoulos H.E., Makridis P. 2013. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum* 34 : 539-546

T

- Tripathy B., Satyanarayana S., Abedulla Khan K., Raja K. 2017.An Updated Review on Traditional Uses, Taxonomy, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Origanum majorana* .*Int J Pharma Res Health Sci* 5 (4): 1717-1723.
- Tosun M., Ercisli S., Sengul M., Ozerh H., Polat T., Ozturk E. 2009 .Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Eight *Salvia* Species from Turkey. *Biol Res* 42: 175-181
- Torres-Barajas L., Rojas-Vera J., Morales-Mendez A., Rojas-Fermin L., Lucena M., Buitrago A. (2013). Chemical composition and evaluation of antibacterial activity of essential oils of *Ageratina jahnii* and *Ageratina pichinchensis* collected in Mérida, Venezuela. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*12(1):92-98.
- Tumbas V., Čanadanović-Brunet J., Gille L., Đilas S., Četković G. (2010). Superoxide anion radical scavenging activity of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Journal of Berry Research* 1(1): 13-23.

**Résumé**

L'objectif de cette étude était d'évaluer la composition chimique des huiles essentielles extraites d'*Origanum majorana*. leur propriétés antioxydantes et leur activité antibactérienne. les huiles essentielles ont été extraites par l'hydrodistillation, les résultats de rendement variable (0.6%-1.85%) et leur compositions chimique ont été déterminées par GC-MS et GC-FID. L'étude d'anti-oxydant des extrait a été effectuée par la méthode de DPPH et de pouvoire reducteur et de blanchiment au  $\beta$ -carotène et d'activité de piégeage des radicaux anion superoxyde , induisant des valeurs IC50 plus eleves que le BHT. L'activité antibactérienne des fractions obtenues par chromatographie sur colonne sèche du gel de silice également été testée. On a constaté que la fraction riche en hydrate de cis-sabinene était plus active que celle riche en terpinène-4-ol.

**Mots clés:** *origanum majorana*, huile essenstielle, activités biologiques, GC-MS, extraction.

**Summary**

The objective of this study was to evaluate the chemical composition of the essential oils extracted from *Origanum majorana*. their antioxidant properties and antibacterial activity. the essential oils were extracted by hydrodistillation, the results of variable yield (0.6%-1.85%) and their chemical compositions were determined by GC-MS and GC-FID. The study of anti-oxidant extracts was carried out using the DPPH and reductor and  $\beta$ -carotene bleaching method and superoxide anion radical trapping activity, inducing higher IC50 values than BHT. The antibacterial activity of the fractions obtained by dry column chromatography of the silica gel was also tested. The hydrate-rich cis-sabinene fraction was found to be more active than the terpinene-4-ol fraction.

Keywords : *origanum majorana*, Essential oil, biological activities, GC-MS, extraction.

**ملخص**

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية المستخرجة من أوريجانوم ماجورانا. خصائصها المضادة للأكسدة ونشاطها المضاد للأجسام. وقد تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق الاستعمال المائي ، ونتائج العائد المتغير (0.6% - 1.85%) ، وتم تحديد تركيباتها الكيميائية بواسطة GC-MS و GC-FID. وأجريت دراسة لمقتطفات مضادة للأكسدة باستخدام طريقة تبييض ثنائي الفينيل متعدد الكلور والكاروتين بيتا ونشاط التخثر الراديكالي للأكسدة الفائقة ، مما أدى إلى ظهور قيم IC50 أعلى من غاز ثنائي الفينيل متعدد الكلور. كما تم اختبار النشاط المضاد للكسور التي تم الحصول عليها بواسطة كروماتوغرافيا العمود الجاف لهلام السيليكا. ووجد أن الجزء الغني بالهيدرات من Cis-sabinene أكثر نشاطا من جزء terpinene-4-ol.

**الكلمات المفتاحية** *Origanum majorana*; الزيت العطري, GC-MS, النشاط البيولوجي, استخراج.