



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministre de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique



Université Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Végétale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master  
Et de l'obtention du diplôme Startup – Brevet dans  
le cadre de l'arrêté ministériel 1275

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude phytochimique et évaluation des activités  
antibactérienne, antioxydante, analgésique,  
antipyrétique, anti-ulcère, anti-inflammatoire,  
antidiabétique, et la toxicité des deux espèces  
*Saussurea lappa* L. et *Origanum majorana* L.**

Présentée et soutenue par :

AMAMRA Khoulood.

MESSAOUDENE Kaouther.

Le : 13/06/2024

Jury d'évaluation:

Présidente	Dr KARA Karima	Maitre de conférences A, UFMC1
Encadrant	Dr CHIBANI Salih	Maitre de conférences A, UFMC1
Co-encadrant	Dr BOULACEL Mouad	Maitre de conférences A, UFMC1
Examinatrice	Dr AOUIDJIA Naoual	Maitre de conférences B, UFMC1
Invitée	Dr Madi Aicha	Maitre de conférences A, UFMC1

L'année universitaire : 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



# Remerciements

Tout d'abord nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à Dieu Tout-Puissant pour nous avoir donné la force, la patience et la sagesse nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à monsieur CHIBANI Salih, Maitre de conférences A, à l'université des frères Mentouri Constantine. Il nous a guidé dans la conduite de ce travail et nous a aidé à trouver des solutions pour avancer, nous tenons à le remercier également pour sa patience et sa disponibilité tout au long de cette recherche, ses compétences et sa disponibilité ont été essentielles pour l'aboutissement de ce mémoire.

A monsieur Co-Encadreur BOULACEL Mouad, Maitre de conférences A, à l'université des frères Mentouri Constantine. Pour son aide précieuse, ses remarques pertinentes et son accompagnement rigoureux.

Nous adressons nos sincères remerciements à M<sup>me</sup> KARA Karima Maitre de conférences A, à l'université des frères Mentouri Constantine, pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que nous fait M<sup>me</sup> AOUIDJIA Naoual Maitre de conférences B, à l'université des frères Mentouri Constantine, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie du jury.

Nous remercions tout particulièrement Monsieur BAHRI Laid pour son aide précieuse à l'animalerie, son expertise et sa générosité ont été d'un grand soutien pour la réalisation de ce projet.

Nous exprimons notre gratitude aux personnels du centre de CRBT pour leur aide logistique et leur accueil chaleureux, leur soutien a grandement facilité le déroulement de nos travaux de recherche.

En fin, nous remercions tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire, Leur aide et leur soutien ont été inestimables.

*Khouloud, Kaouther.*

# DEDICACE

Nous louons Allah pour son amour, sa gratitude et sa générosité du début à la fin. Après cinq années de fatigue et d'efforts sur le chemin du rêve et de la connaissance, j'ai porté avec moi les souhaits des nuits. Je suis ici aujourd'hui, sur le point d'obtenir mon diplôme, tenant fièrement mon chapeau haut alors que je récolte les fruits de tout mon travail acharné.

Par conséquent, ô Dieu, nous te louons avant que tu sois satisfait, nous te louons lorsque tu es satisfait et nous te louons après que tu sois satisfait. Grâce à vous, j'ai pu réussir et réaliser mes rêves.

Avec amour, je dédie les fruits de ma réussite et de mon diplôme

À celui qui m'a orné mon nom des plus beaux titres, à celui qui m'a inlassablement soutenu et donné sans rien attendre en retour, à celui qui m'a appris que la vie est un combat, l'arme est la connaissance, le premier soutien dans mon chemin, ma force et mon refuge en Dieu, ma fierté et ma vanité. (**Mon cher père "Karim"**)

Pour elle, pour qui Allah avait placé le paradis sous ses pieds, son cœur m'embrassait avant que ses mains ne m'embrassent, ses prières soulageaient mes difficultés, son cœur aimant et ses bougies étaient le secret de ma force, de mon succès dans la nuit noire et la source de mon bonheur. (**Ma chère mère "Naima"**)

À celui qui m'a soutenu avec amour dans mes moments de faiblesse, a écarté les obstacles de mon chemin et a préparé ma voie en m'inculquant confiance et détermination. Vous m'avez été d'un grand secours. (**Mon cher "Raéd"**)

Aux anges qui ont changé le concept de l'amour, de l'amitié et du soutien dans ma vie. Dieu m'a béni de pouvoir expérimenter un beau goût de la vie à travers eux. (**Mes chères sœurs "Rifka, Roukaya, Nada et zeineb"**)

À ceux qui m'ont souhaité du succès et qui ont été à mes côtés à tout moment. (**Mon cher frère "Imad"**)

À ces âmes pures et honnêtes qui m'ont appris le sens de l'amitié et ont été des symboles de loyauté et de bonne camaraderie. (**Mes chères amies "Chahra, Meriem, Amira, Amira, Djihad, Sofia, Nada et Rahma"**)

*Khouloud.*



## Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ: "وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ."

*Louange à Dieu qui m'a accordé le succès dans l'achèvement de cette mémoire.*

*Louange à Dieu pour la réalisation du rêve qui n'était qu'un espoir hier, et qui est maintenant devenu réalité. Grâce à Dieu et à Sa guidance, j'ai complété mon parcours universitaire avec enthousiasme et persévérance.*

*Je remercie Dieu pour cette belle journée de ma remise de diplôme, et je Lui demande de continuer à me guider et à diriger mes pas vers l'avenir.*

*Je dédie mon travail à...:*

*Ma chère mère, Zouhra, qui a été une lumière éclairant mon chemin à chaque étape de ma vie et qui a été à mes côtés dans toutes les situations. Je remercie Dieu pour sa présence dans ma vie.*

*Mon cher père, Saleh, qui a été un soutien solide tout au long de ma vie..*

*Mes chers frères, Zakaria et Aboubakr, qui m'ont apporté leur soutien et partagé ma joie.*

*Roufeida, ma seule sœur, qui a toujours été à mes côtés avec son soutien et ses conseils.*

*Pour Sadjed, mon cher petit, le fils de ma sœur qui apporte la joie et le bonheur.*

*Maissa, ma chère et unique amie qui est toujours avec moi dans les moments de joie et de tristesse.*

*Pour la personne la plus chère à mon cœur, qui a été constamment présente avec moi et m'a offert un soutien sans fin pendant ces cinq années.*

*Ma cousine Dounia et sa copine Tina, qui m'ont aidée et conseillée.*

*Wassila, qui a fait des efforts et m'a apporté son aide.  
Et à mes collègues Chaima, Hadjer, Soria, ..*

**Kaouther** 



## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Aire de répartition du genre <i>Origanum</i> .....	3
<b>Figure 02</b> : Les parties aériennes d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	3
<b>Figure 03</b> : Aspect morphologique d' <i>Origanum majorana</i> L.....	5
<b>Figure 04</b> : Partie florale d'espèce <i>Saussurea lappa</i> L. ....	7
<b>Figure 05</b> : Image photographique d'espèce <i>Saussurea lappa</i> L. ....	7
<b>Figure 06</b> : Les racines d'espèce <i>Saussurea lappa</i> L. ....	8
<b>Figure 07</b> : La distribution du <i>Saussurea lappa</i> L. en Inde.....	9
<b>Figure 08</b> : Structure chimique des quinones.....	12
<b>Figure 09</b> : La formule générale des anthraquinones. ....	12
<b>Figure 10</b> : Structure de base des flavonoïdes.....	13
<b>Figure 11</b> : Sources alimentaires des flavonoïdes. ....	13
<b>Figure 12</b> : Structure de base des tanins.....	14
<b>Figure 13</b> : Classification des tannins selon leurs structures chimiques. ....	14
<b>Figure 14</b> : Synthèse des phytostérols du tournesol.....	15
<b>Figure 15</b> : Les objectifs des antibiotiques.....	18
<b>Figure 16</b> : L'espèce <i>Origanum majorana</i> L. ....	26
<b>Figure 17</b> : L'espèce <i>Saussurea lappa</i> L.....	26
<b>Figure 18</b> : Les étapes d'obtention des extraits de plantes.....	27
<b>Figure 19</b> : les différentes dilutions de l'extrait .....	33
<b>Figure 20</b> : Injection du formol 1%.....	38
<b>Figure 21</b> : Mesure du volume de l'œdème. ....	39
<b>Figure 22</b> : Les étapes d'activité analgésique. ....	40
<b>Figure 23</b> : Injection de la levure sous-cutanée .....	41
<b>Figure 24</b> : Mesure de la température rectale .....	42
<b>Figure 25</b> : Coupe au niveau de la queue du rat et mesure du glucose sanguin.....	45
<b>Figure 26</b> : Rat reçoit de l'extrait par gavage .....	46
<b>Figure 27</b> : Résultats de détection des saponosides dans les espèces <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> .....	51
<b>Figure 28</b> : Courbe d'étalonnage d'acide gallique. ....	51
<b>Figure 29</b> : Courbe d'étalonnage de Quercétine. ....	52
<b>Figure 30</b> : La moyenne de la zone d'inhibition sous l'effet de différentes concentrations EMOM, EMSL et Référence ( <i>Escherichia Coli</i> ). ....	54
<b>Figure 31</b> : La moyenne de la zone d'inhibition sous l'effet de différentes concentrations EMOM, EMSL et Référence ( <i>Staphylococcus aureus</i> ). ....	56
<b>Figure 32</b> : Microplaque des tests d'activités du radical DPPH de EMSL et EMOM.....	58
<b>Figure 33</b> : Les valeurs de l'IC50 de test DPPH .....	59

<b>Figure 34 :</b> Microplaque pour les tests d'activité de piégeage du cation radical ABTS+ de l'EMSL et de l'EMOM .	60
<b>Figure 35:</b> Les valeurs de l'IC50 de test ABTS.	61
<b>Figure 36:</b> Microplaque des tests d'activités du pouvoir réducteur (FRAP) de l'EMSL et de l'EMOM.	62
<b>Figure 37:</b> Les valeurs de l'A0,5 de test FRAP.	63
<b>Figure 38 :</b> Microplaque des tests d'activités du réduction de fer ferrique par la formation de complexe Fe+2- phénanthroline de l'EMSL et EMOM	64
<b>Figure 39 :</b> Les valeurs de l'A0,5 de test phenantroline.	65
<b>Figure 40:</b> Microplaque des tests d'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits méthanoliques et du diclofénac de référence.	66
<b>Figure 41:</b> Résultats d'activité anti-inflammatoire in vitro des EMOM et EMSL après lecture de la microplaque.	67
<b>Figure 42:</b> Résultats d'activité anti-inflammatoire in vitro de référence diclofénac après lecture de la microplaque.	67
<b>Figure 43:</b> Courbe de l'évolution de l'oedème traité par l'eau physiologique, Diclofénac , EMSL et EMOM	68
<b>Figure 44 :</b> Le pourcentage d'inhibition des crampes abdominales (%)	70
<b>Figure 45 :</b> Graphique représentatif du taux de la pyrexie	73
<b>Figure 46 :</b> Le pourcentage d'ulcération pour les différents groupes.	75
<b>Figure 47 :</b> Le pourcentage d'inhibition pour les différents groupes.	75
<b>Figure 48:</b> Graphique représentatif du taux de glycémie des rats traités avec différents groupes (eau physiologique, contrôle positif, extraits de feuilles d' <i>Origanum majorana</i> L.et racines de <i>Saussurea lappa</i> L.	77
<b>Figure49:</b> L' aspect des organes des rats ayant reçu de l'EMSL.	79
<b>Figure 50:</b> L' aspect des organes du rat ayant reçu de l'EMOM (Le rat mort).	80

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification botanique de l' <i>Origanum majorana</i> L.....	3
<b>Tableau 02</b> : La classification taxonomique de l' <i>Origanum majorana</i> L.....	4
<b>Tableau 03</b> : La classification APG III d'espèce <i>Saussurea lappa</i> L. ....	8
<b>Tableau 04</b> : Les différents noms du <i>Saussurea lappa</i> L.....	9
<b>Tableau 05</b> : L'utilisation ethno médicinales du <i>Saussurea lappa</i> L.....	10
<b>Tableau 06</b> : La classification des terpènes.....	16
<b>Tableau 07</b> : Une comparaison entre la douleur aiguë et la douleur chronique.....	19
<b>Tableau 08</b> : Séries de dilutions réalisées à partir d'extraits méthanoliques. ....	31
<b>Tableau 09</b> : Résultats de criblage des quinones libres dans les espèces <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> . ....	47
<b>Tableau 10</b> : Résultats de criblage des anthraquinones dans les espèces <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> . ....	48
<b>Tableau 11</b> : Résultats de criblage des flavonoïdes dans les espèces ..... <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> . ....	48
<b>Tableau 12</b> : Résultats de criblage des tannins dans les espèces ..... <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> . ....	49
<b>Tableau 13</b> : Résultats de criblage des triterpènes dans les espèces ..... <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> . ....	49
<b>Tableau 14</b> : Résultats de criblage des stérols dans les espèces ..... <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> . ....	50
<b>Tableau 15</b> : Résultats de criblage des stéroïdes lactoniques dans les espèces <i>O.majorana</i> et <i>S.lappa</i> . ....	50
<b>Tableau 16</b> : Teneurs en polyphénols totaux d'EMOM et EMSL.....	52
<b>Tableau 17</b> : Teneurs en flavonoïdes totaux d'EMOM et EMSL.....	52
<b>Tableau 18</b> : Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h ( <i>Escherichia coli</i> ). ....	53
<b>Tableau 19</b> : Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h ..... ( <i>Escherichia coli</i> ). ....	54
<b>Tableau 20</b> : Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h..... ( <i>Staphylococcus aureus</i> ). ....	55
<b>Tableau 21</b> : Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h ..... ( <i>Staphylococcus aureus</i> ). ....	56
<b>Tableau 22</b> : Inhibition du radical DPPH par les extraits de S.l et O.m. ....	58
<b>Tableau 23</b> : Pouvoir d'inhibition du ABTS avec les valeurs de l'IC50 de test ABTS.....	60
<b>Tableau 24</b> : Les absorbances du pouvoir réducteur des EMSL et EMOM. ....	63



<b>Tableau 25</b> : Les absorbances du pouvoir réducteur du fer-phénanthroline mesurées par EMSL et EMOM. ....	64
<b>Tableau 26</b> : Evolution de l'oedème traité par l'eau physiologique, Diclofénac et EM des plantes étudiées précédemment. ....	68
<b>Tableau 27</b> : Effet analgésique de paracétamol, d'EMOM et d'EMSL sur le nombre de crampes abdominale induites par l'acide acétique chez les rats. ....	70
<b>Tableau 28</b> : Résultats des taux de pyrexie .....	72
<b>Tableau 29</b> : Résultats d'activité anti ulcère. ....	74
<b>Tableau 30</b> : Le pourcentage d'ulcération et d'inhibition pour les différents groupes. ....	75
<b>Tableau 31</b> : Résultats du taux de glycémie.....	77
<b>Tableau 32</b> : Différents comportements des rats dans le test de toxicité à dose 2g/kg d'EMSL .....	78
<b>Tableau 33</b> : Différents comportements des rats dans le test de toxicité à dose 2g/kg d'EMOM .....	79

## Liste des abréviations

- **µg** : Microgramme.
- **mg** : Milligramme.
- **mm** : Millimètre
- **µl** : Microlitre.
- **nm** : nanomètre.
- **T** : Temps.
- **%** : Pourcentage.
- **v/v** : Rapport volume par volume.
- **H<sub>2</sub>O** : Eau.
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peroxyde d'hydrogène.
- **HCl** : Hydrochlorique acid.
- **IC<sub>50</sub>**: Concentration inhibitrice à 50%.
- **KOH** : Hydroxyde de potassium.
- **Abs** : Absorbance.
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényle- $\beta$ -picrylhydrazyle).
- **µg EAG/mg PS** : microgramme d'équivalent par milligramme.
- **CCM**: Chromatographie sur couche mince.
- **MeOH**: Méthanol.
- **BHA** : Butylhydroxyanisol.
- **FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique.
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- **Mg** : Magnesium.
- **UV** : Ultra-violet.
- **AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium.
- **NaNO<sub>2</sub>** : Nitrite de sodium.
  
- **g** : Gramme.
- **cm** : Centimètre.
- **kg** : Kilogramme.
- **IP** : Intrapéritonéale.
- **n** : Nombre.
- **NaCl** : Eau physiologique.
- **h** : Heure.
- **X** : Agrandissement.

- ***O.majorana*** : Origanum majorana L.
- ***S.lappa*** : Saussurea lappa L.
- ***Om*** : Origanum majorana L.
- ***Sl*** : Saussurea lappa L.
- **EMOM** : Extrait méthanolique d'Origanum majorana L.
- **EMSL** : Extrait méthanolique de Saussurea lappa L.
- **ADA** : American Diabetes Association.
- **OMS** : Organisation mondiale de la Santé.
- **L'OCDE** : L'Organisation de Coopération et de Développement Économiques.
- **EM** : Extrait méthanolique.
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
- **ABTS** : 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).
- **FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power.
- **BSA** : Bovine Serum Albumin.
- **TCA**: Acide Trichloroacétique.

# Sommaire

Introduction générale.....	1
La première partie : Etude bibliographique.....	2
Chapitre 01 : Etude botanique.....	1
I. Propriétés biologiques d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	2
I.1. Généralités sur la famille Lamiaceae.....	2
I.2. Le genre <i>Origanum</i> .....	2
I.3. L'espèce <i>Origanum majorana</i> L. ....	3
I.3.1. Position systématique (classification botanique).....	3
I.3.2. Description botanique du plante .....	4
I.3.3. L'origine et la répartition géographique d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	5
I.3.4. Propriétés médicinales d' <i>Origanum majorana</i> L. ....	5
II. Propriétés biologiques du <i>Saussurea lappa</i> L.....	6
II.1. Généralités sur la famille Asteraceae.....	6
II.2. Le genre <i>Saussurea</i> .....	6
II.3. L'espèce <i>Saussurea lappa</i> L.....	6
II.3.1. Description botanique.....	7
II.3.2. Position systématique (classification botanique).....	8
II.3.3. L'origine et la répartition géographique du <i>Saussurea lappa</i> L.....	9
II.3.4. Propriétés médicinales du <i>Saussurea lappa</i> L.....	9
Chapitre 02 : Métabolites secondaires .....	10
I. Définition générale .....	11
II. Classification des métabolites secondaires .....	11
III. Les polyphénols .....	11
III.1. Les quinones.....	11
III.2. Les anthraquinones .....	12
III.3. Les flavonoïdes.....	12
III.3.1. Définition .....	12
III.3.2. Structure.....	12
III.3.3. Localisation et distribution .....	13
III.4. Les tannins .....	13
III.4.1. Classification des tanins.....	14
IV. Les coumarines .....	15
V. Les stéroïdes .....	15
VI. Les stérols.....	15

<b>VII. Les terpènes</b> .....	16
<b>VII.1. La classification des terpènes</b> .....	16
<b>VIII. Les saponosides</b> .....	16
<b>Chapitre 03 : Activités biologiques</b> .....	16
<b>I. Activité antibactérienne</b> .....	16
<b>I.1. Généralités</b> .....	17
<b>I.2. Les bactéries</b> .....	17
<b>I.3. Les antibiotiques</b> .....	17
<b>I.4. Mode d'action des antibiotiques des plantes contre les bactéries</b> .....	17
<b>I.5. Les micro-organisme utilisé dans les tests antibactérienne</b> .....	18
<b>I.5.1. Escherichia coli</b> .....	18
<b>I.5.2. Staphylococcus aureus</b> .....	18
<b>I.5.3. Pseudomonas aeruginosa</b> .....	18
<b>II. L'activité analgésique</b> .....	18
<b>II.1. Douleur</b> .....	18
<b>II.2. Classification de la douleur</b> .....	19
<b>II.3. Traitement de la douleur</b> .....	20
<b>III. L'activité antipyrétique</b> .....	20
<b>III.1. La fièvre</b> .....	20
<b>III.2. Les types de fièvres</b> .....	21
<b>III.3. Traitement de la fièvre</b> .....	21
<b>IV. L'activité anti-ulcère</b> .....	21
<b>IV.1. Généralités sur les ulcères gastriques</b> .....	21
<b>IV.2. Classification des ulcères gastriques</b> .....	21
<b>IV.3. Traitement de l'ulcère gastrique</b> .....	22
<b>V. L'activité anti-inflammatoire</b> .....	22
<b>V.1. L'inflammation</b> .....	22
<b>V.2. Les anti-inflammatoires</b> .....	22
<b>VI. L'activité antidiabétique</b> .....	23
<b>VI.1. Le diabète</b> .....	23
<b>VI.2. Les principaux types de diabète</b> .....	23
<b>VII. Activité antioxydante</b> .....	24
<b>VII.1. Les antioxydants</b> .....	24
<b>VII.2. Classification des antioxydants</b> .....	24
<b>VII.3. Stress oxydant</b> .....	25
<b>VIII. La toxicité</b> .....	25

<b>La deuxième partie : Etude expérimentale</b> .....	26
<b>Matériel et méthodes</b> .....	26
<b>I. Tests phytochimiques</b> .....	26
<b>I.1. Matériel végétal</b> .....	26
<b>I.1.1 La récolte de la matière végétale</b> .....	27
<b>I.1.2. Broyage des parties secs</b> .....	27
<b>I.1.3. Extraction de métabolites secondaires</b> .....	27
<b>I.2. Détection des polyphénols</b> .....	28
<b>I.2.1. Détection des quinones libres</b> .....	28
<b>I.2.2. Criblage des anthraquinones</b> .....	28
<b>I.2.3. Criblage des flavonoïdes</b> .....	28
<b>I.2.4. Criblage des tannins</b> .....	28
<b>I.3. Détection des Stérols, stéroïdes et terpènes</b> .....	28
<b>I.4. Détection des coumarines</b> .....	29
<b>I.4.1. Préparation de l'éluant</b> .....	29
<b>I.4.2. Préparation des plaques CCM</b> .....	29
<b>I.5. Détection des saponosides</b> .....	29
<b>I.6. Dosage des composés phénoliques totaux</b> .....	30
<b>I.7. Dosage des flavonoïdes</b> .....	30
<b>II. Evaluation des activités biologiques</b> .....	31
<b>II.1. L'activité antibactérienne</b> .....	31
<b>II.2. Activité anti-oxydantes</b> .....	32
<b>1-Activité antiradicalaire au DPPH•+</b> .....	33
<b>2- Activité du piégeage du cation radical ABTS•+ : ABTS scavenging activity</b> ....	34
<b>3- Activité du pouvoir réducteur : Reducing power (FRAP)</b> .....	34
<b>4- Activité de réduction par la formation du complexe Fe<sup>2+</sup> : Phenanthroline activity</b> .....	35
<b>II.3. L'activité Anti-inflammatoire in-vitro</b> .....	36
<b>II.4. Activité anti-inflammatoire in vivo</b> .....	37
<b>II.5. L'activité analgésique</b> .....	39
<b>II.6. L'activité antipyrétique</b> .....	41
<b>II.7. L'activité anti ulcère</b> .....	42
<b>III.8. Activité antidiabétique</b> .....	44
<b>III.9. Etude de la toxicité</b> .....	45
<b>Résultats et discussion</b> .....	47
<b>I/Screening phytochimique des métabolites secondaires</b> .....	47

<b>I.1. Criblage des composés phénoliques</b> .....	47
<b>I.1.1. Détection des quinones libres</b> .....	47
<b>I.1.2. Criblage des anthraquinones</b> .....	48
<b>I.1.3. Criblage des flavonoïdes</b> .....	48
<b>I.1.4. Criblage des tannins</b> .....	49
<b>I.2. Criblage des Stérols, stéroïdes et triterpènes</b> .....	49
<b>I.3. Détection des coumarines</b> .....	51
<b>I.4. Détection des saponosides</b> .....	51
<b>I.5. Dosage des composés phénolique totaux</b> .....	51
<b>I.6. Dosage des flavonoïdes</b> .....	52
<b>II. Propriétés biologique des extraits</b> .....	53
<b>II.1. L'activité antibactérienne</b> .....	53
<b>II.2. Activité antioxydante</b> .....	57
<b>1-DPPH assay</b> .....	57
<b>2-ABTS assay</b> .....	59
<b>3-Reducing power (FRAP)</b> .....	62
<b>4-Phenantroline assay</b> .....	64
<b>II.3. L'activité anti-inflammatoire in vitro</b> .....	66
<b>II.4. Activité anti inflammatoire in vivo</b> .....	68
<b>II.5. L'activité analgésique</b> .....	70
<b>II.6. L'activité antipyrétique</b> .....	72
<b>II.7. L'activité anti-ulcère</b> .....	74
<b>II.8. L'activité antidiabétique</b> .....	76
<b>II.9. Etude de la toxicité</b> .....	78
<b>Conclusion</b> .....	81
.....	81
<b>Résumé</b> .....	82
<b>Références bibliographiques</b> .....	85

# **Introduction générale**



## Introduction générale

### Introduction générale

Depuis des siècles, les plantes médicinales ont été au cœur des pratiques de médecine traditionnelle, proposant des remèdes naturels pour un large éventail de maladies. Leur utilisation découle d'une longue tradition de sagesse empirique, transmise de génération en génération, et est profondément enracinée dans les cultures du monde entier. Des études telles que celles menées par Balick et Cox en 1996 ont mis en lumière l'importance des plantes dans la médecine traditionnelle et leur rôle central dans la santé humaine. De plus, les travaux de Fabricant, ont souligné la valeur des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle comme source potentielle de nouvelles découvertes médicinales. À l'heure actuelle, alors que la recherche scientifique continue d'explorer les propriétés et les mécanismes d'action de ces trésors botaniques, nous assistons à un regain d'intérêt pour les plantes médicinales en tant que sources prometteuses de nouveaux médicaments et de compléments thérapeutiques [11].

Dans cette optique, notre étude se concentre sur deux plantes spécifiques : *Saussurea lappa* L. et *Origanum majorana* L., qui ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés médicinales diverses et de leurs multiples effets bénéfiques sur la santé humaine.

Ces plantes, riches en composés phytochimiques variés, offrent un potentiel thérapeutique considérable qui mérite d'être exploré de manière approfondie.

*Saussurea lappa* L., est réputé pour ses propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antidiabétiques. Ses rhizomes renferment une variété de composés bioactifs tel que les flavonoïdes, qui sont responsables de ses effets pharmacologiques divers [44].

*Origanum majorana* L. plus communément appelé marjolaine, est une herbe aromatique largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses vertus antioxydantes, antibactériennes, et anti-ulcère. Ses feuilles et ses fleurs contiennent des huiles essentielles qui confèrent à la plante ses propriétés médicinales remarquables. [18].

En explorant les extraits méthanoliques de ces deux plantes, nous visons à évaluer leurs activités biologiques dans des domaines clés de la santé humaine, notamment leurs effets antibactériens contre les agents pathogènes, leur capacité à réduire l'inflammation et la douleur, leur potentiel antioxydant dans la lutte contre le stress oxydatif, ainsi que leur impact sur des troubles spécifiques tels que le diabète, les ulcères et la fièvre.

Cette étude vise à jeter une lumière nouvelle sur l'importance des plantes médicinales dans notre vie quotidienne, en mettant en évidence leurs contributions potentielles à la santé et au bien-être de l'homme. En combinant une approche scientifique rigoureuse avec le respect des connaissances traditionnelles, nous aspirons à ouvrir de nouvelles voies dans le domaine de la médecine naturelle et à contribuer à la promotion d'une approche holistique de la santé.

**La première partie : Etude  
bibliographique**

# **Chapitre 01 : Etude botanique**

**I. Propriétés biologiques d'*Origanum majorana* L.****I.1. Généralités sur la famille Lamiaceae**

L'ordre Lamiales est un ensemble significatif avec 17 800 espèces actuellement répertoriées dans 21 familles différentes. Parmi ces familles, les Lamiacées, anciennement connues sous le nom de Labiées, se distinguent par leurs quelque 258 genres et 6 970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres [45]. Parmi les plantes les plus populaires de cette famille dans les remèdes traditionnels, on trouve le Romarin, le Thym, l'Origan et la Sauge [105].

Les feuilles des Lamiacées sont opposées décussées, simples ou parfois composées. Leurs tiges sont souvent carrées, avec des espèces dressées ou couchées portant des feuilles opposées ou verticillées [81].

**I.2. Le genre *Origanum***

Le genre *Origanum* est composé de 43 espèces et 18 hybrides répartis en trois groupes et 10 sections [78]. Ce genre inclut diverses espèces, sous-espèces, variétés et hybrides qui peuvent être distingués individuellement, bien que d'importantes variations subsistent [11]. Parmi les espèces les plus notables d'*Origanum* dans le monde, citons *Origanum majorana* L. (la marjolaine douce), *O. vulgare* (origan sauvage de Turquie), *O. dictamnus* L. (Dittany de Crète), *Origanum onites* L. (origan italien ou marjolaine en pot), et *O. syriacum* (l'hysope bible ou l'origan syrien) [78].

L'origan est généralement considéré comme la forme sauvage de la marjolaine [17]. Depuis l'Antiquité, les espèces d'*Origanum* ont été utilisées comme remèdes traditionnels pour divers maux tels que la coqueluche, la toux convulsive, les troubles digestifs, les spasmes, etc. [147].

Ces espèces sont largement exploitées dans l'agroalimentaire, l'industrie cosmétique et pharmaceutique en tant qu'herbes culinaires renommées, agents aromatisants pour les aliments, les boissons alcoolisées et les parfums, en raison de leurs arômes épicés [127]. Les herbes séchées d'origan sont intégrées à de nombreux aliments transformés tels que les produits laitiers, les produits carnés, et certaines espèces servent également de composants pour les savons, les parfums, les cosmétiques, les détergents, les arômes et les produits pharmaceutiques [16].

En Algérie, l'*Origanum* est utilisé comme remède contre les affections respiratoires et la toux, étant reconnu pour ses propriétés expectorantes, stomachiques, toniques, stimulantes, antispasmodiques et antiseptiques [17].



**Figure 01 :** Aire de répartition du genre *Origanum* [62].

### I.3. L'espèce *Origanum majorana* L.

L'*Origanum majorana* L, également connu sous le nom commun de "Marjoram" ou marjolaine vraie, anciennement désignée sous le nom de *Majorana hortensis* Moench, est une plante cosmopolite. Son appellation courante "marjolaine douce" découle de ses saveurs d'agrumes. Elle est également appelée Merdgouche et est connue sous d'autres appellations telles que Sweet Marjoram, marjolaine à coquilles et Marjolaine française. En Afrique du Nord, les Arabes la nomment Kherzama (Tunisie), Meurdekouch (Maroc), ainsi que Mazermouch ou Marikoum, des termes également utilisés pour d'autres espèces d'*Origanum* [137], [133].



**Figure 02:** Les parties aériennes d'*Origanum majorana* L.

#### I.3.1. Position systématique (classification botanique)

**Tableau 01 :** classification botanique de l'*Origanum majorana* L. (Gilles, 2007)

Catégorie	Classification
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales

<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Sous-famille</b>	Népétoïdées
<b>Genre</b>	Origanum
<b>Espèce</b>	<i>Origanum majorana</i> L

**Tableau 02 :** La classification taxonomique de l'*Origanum majorana* L [143].

<b>Catégorie</b>	<b>Classification</b>
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous- règne</b>	Viridiplantae
<b>Super division</b>	Embryophyta
<b>Division</b>	Trachéophyta
<b>Sous-division</b>	Spermatophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Super-ordre</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Sous-famille</b>	Nepetoideae
<b>Genre</b>	Origanum L.
<b>Espèce</b>	<i>Origanum majorana</i> L.

### I.3.2. Description botanique du plante

#### Description morphologique du plante

La Marjolaine (*Origanum majorana* L) est une plante herbacée à feuilles persistantes, vivace, velue avec un aspect cendré. Ses feuilles sont opposées, ovales et duveteuses. Sa tige est dressée, ramifiée, mesurant entre 20 et 30 cm de hauteur et entre 0,3 cm et 0,9 cm de largeur. Son inflorescence est très ramifiée, située au sommet des tiges, poussant en grappe dense et pédonculée à l'aisselle des feuilles. Les fleurs présentent une couleur blanche avec une lèvre supérieure marginée et une lèvre inférieure trilobée. Son calice est bilabié, avec une lèvre supérieure orbiculaire et une lèvre inférieure plus ou moins bidentée. Les étamines sont divergentes, et ses fruits sont des tétrakènes. [18], [03] .



**Figure 03 :** Aspect morphologique d'*Origanum majorana* L.

A : calice, b : corolle, c : fleur, d : gynécée, e : étamine, f : style

### I.3.3. L'origine et la répartition géographique d'*Origanum majorana* L.

Originnaire du bassin méditerranéen [63], de Chypre et du sud de la Turquie [62], la marjolaine vraie est une plante vivace sur les côtes de la région méditerranéenne et en Afrique, mais annuelle dans les jardins d'Europe centrale où elle est cultivée [34]. L'*Origanum majorana* L. est une plante aromatique largement cultivée à travers le monde, notamment en Inde, en France, en Europe du Nord et dans les zones tropicales, pour ses propriétés aromatiques, son huile essentielle et son parfum [63], [146]. Elle pousse également en Europe du Sud, en Afrique du Nord et en Turquie [137]. L'*Origanum majorana* L. est également cultivée dans de nombreux pays d'Amérique et d'Asie, ainsi qu'en Europe occidentale. On la retrouve souvent à l'état subspontané dans ses habitats d'origine, où elle pousse généralement dans des régions sèches, rocheuses et calcaires, à des altitudes comprises entre 100 et 1500 mètres. Elle est cultivée comme herbe médicinale dans les jardins, en pots ou en extérieur [62].

### I.3.4. Propriétés médicinales d'*Origanum majorana* L.

*Origanum majorana* L. est une plante couramment utilisée dans la médecine traditionnelle et l'industrie cosmétique [43], [55]. Elle est renommée depuis des siècles pour ses vertus médicinales et culinaires, agissant efficacement sur divers aspects de la santé. Traditionnellement, ses feuilles sont employées pour traiter le diabète et le catarrhe, tandis

qu'elle est également prisée comme remède maison pour les affections cardiovasculaires, les infections pulmonaires, les troubles nerveux, l'insomnie, la nervosité et les soins cutanés [146].

## **II. Propriétés biologiques du *Saussurea lappa* L.**

### **II.1. Généralités sur la famille Asteraceae**

Les Astéracées constituent l'une des plus grandes familles d'angiospermes et sont également appelées composées (Compositae, nom latin) ou plus rarement composacées [52].

Il compte environ 1600 à 1700 espèces regroupées en 24000 genres [52], ce qui en fait la deuxième plus grande famille du monde végétal et des plantes à fleurs, derrière la famille des Orchidées (25000 espèces) mais devant les Fabaceae [65]. En Algérie, il n'y a que 49 genres et 69 espèces dans la petite Kabyles (Babors) [54].

Les principaux représentants de cette famille poussent en dehors de la compétition des arbres de la forêt tropicale, principalement dans les zones sujettes à la sécheresse [17].

La diversité de la famille des Astéracées en fait certainement l'objet de nombreuses études dans de nombreux domaines de la phytologie pure et appliquée. Il est à noter que jusqu'en 1990, les rapports scientifiques sur environ 5000 espèces de chimie mettaient en évidence plus de 7000 composés phytochimiques [159].

La famille Asteraceae se rencontre dans les régions tempérées [23], le bassin méditerranéen, l'Afrique australe, le Mexique, le sud-ouest des États - Unis, les régions arides d'Amérique du Sud et d'autres régions arides [23]. Les graines de cette famille peuvent pousser même dans les régions froides [26].

### **II.2. Le genre *Saussurea***

*Saussurea* est un genre d'environ 300 espèces de plantes à fleurs de la famille des astéracées. Ce sont des plantes alpines découvertes par Horace-Bénédict de Saussure lors d'un de ses voyages (1740-1799).

À sa mort, ce taxon lui a été dédié par Augustin Pyrame de Candolle. Ce genre également mentionné par Paul Fournier, est également dédié à Nicolas Théodore de Saussure (1767-1845), fils Horace-Bénédict de Saussure [114].

### **II.3. L'espèce *Saussurea lappa* L.**

*Saussurea lappa* L. est une plante herbacée appartenant à la famille des Astéracées. Depuis l'antiquité, l'huile des racines des plantes est utilisée en médecine traditionnelle et en parfumerie [80].





**Figure 04 :** Partie florale d'espèce *Saussurea lappa* L. [80]

### II.3.1. Description botanique

Plante herbacée, vivace et à feuilles persistantes, elle peut atteindre jusqu'à 2,7 mètres de long, avec une croissance modérée, la plante prospère en frottant sous les sols organiques et les forêts humides. Les feuilles sont de type simple, de l'ovale au rectangulaire, avec des bords ondulés et des nervures parallèles, disposées alternativement en spirale sur la tige, ce qui lui donne une couleur vert vif. Les fleurs sont aromatiques et coniques [151].

Les fruits ont la forme d'une capsule de 2 cm de diamètre et les graines sont sphériques noires. Il y a de nombreuses branches épaisses brun rougeâtre et les racines s'étendent horizontalement [75].



**Figure 05 :** Image photographique d'espèce *Saussurea lappa* L. [21]

Les racines sont grandes, environ 60 cm, avec une forte odeur particulière. Le plus souvent, les huiles essentielles de racines et les racines sont utilisées à des fins médicinales.

Racines sèches au goût légèrement amer, du gris sale au jaune à l'extérieur, d'environ 8-12 cm de long et 1-3 cm de diamètre. Elle est généralement ridée et surélevée [90].



**Figure 06 :** Les racines d'espèce *Saussurea lappa* L. [21]

### II.3.2. Position systématique (classification botanique)

La classification de *Saussurea lappa* L. a été mentionnée ci-dessus :

**Tableau 03 :** La classification APG III d'espèce *Saussurea lappa* L. [157]

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	Viridaeplantae
<b>Division</b>	Tracheophyta
<b>Sous-division</b>	Spermatophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	Saussurea
<b>Espèce</b>	<i>Saussurea lappa</i> L.

#### Les synonymes de *Saussurea lappa* L.

- *Saussurea lappa* C.B. Clarke. [72]
- *Aucklandia costus* Falc. [100]
- *Aucklandia lappa* Decne. [52]
- *Aplotaxis lappa* Decne. [72]
- *Theodorea costus* Kuntze. [72]

### Les noms vernaculaires *Saussurea lappa* L.

Généralement le *Saussurea lappa* L. appelé costus ou kuth en anglais et en différents langues.

**Tableau 04 :** Les différents noms du *Saussurea lappa* L. [75]

La langue	Le nom
En arabe	الهندي القسط
Hindi et bengali	Kut, Kur, Pachak
Indo-européen (Sanskrit)	Khstha
Nom vernaculaire	Costus indien
Nom scientifique	<i>Saussurea lappa</i> L.

### II.3.3. L'origine et la répartition géographique du *Saussurea lappa* L.

*Saussurea lappa* L. est une plante originaire d'Inde et du Pakistan et est cultivée en Chine au Népal [80].

Il pousse sur les pentes humides d'Himalaya à une altitude de 2500 à 3500 m au-dessus de la mer [30].

On le trouve également dans les vallées du Cachemire, du Jammu et du Kichengaga et cultivé dans les États indiens du Tamil Nadu et de l'Uttar Pradesh. Au Pakistan, on le trouve dans les régions de Kaghan et d'Azad Kashmir [58].



**Figure 07 :** La distribution du *Saussurea lappa* L. en Inde. [113]

### II.3.4. Propriétés médicinales du *Saussurea lappa* L.

L'utilisation du *Saussurea lappa* L. en traitement est une pratique très ancienne remontant à l'époque du prophète (ﷺ), qui le conseillait pour le traitement de diverses maladies [35].

En médecine traditionnelle indienne, *Saussurea lappa* L. est utilisé en monothérapie ou en association avec d'autres médicaments. Ses racines sont principalement utilisées comme antispasmodiques dans le traitement de l'asthme, de toux, dans le traitement du choléra, des maladies chroniques de la peau et des rhumatismes [44].

**Tableau 05** : L'utilisation ethno médicinales du *Saussurea lappa* L.

<b>Partie de la plante</b>	<b>Utilisation médicinales</b>
Décoction de racine	Dysenterie, Ulcère, Maux d'estomac. [69]
Poudre de racines	Paludisme, Lèpre, Hoquet persistant Rhumatisme Stimulant astringent. [71]
Racine	Maux d'estomac, Maux des dents, Fièvre typhoïde. [103]
Racine	Asthme, Troubles cutanés. [134]
Racine	Rhumatisme. [64]

Ses diverses préparations sont également utilisées en médecine ayurvédique pour le traitement de plusieurs maladies telles que la toux, le rhume, le paludisme, la lèpre, le hoquet persistant, les rhumatismes, les maux d'estomac, les maux de dents, la fièvre et la typhoïde.

C'est un médicament important pour la goutte, l'érysipèle et la spermatogénèse. Le *Saussurea lappa* L. a été utilisé par différentes personnes et ethnies du nord de l'Inde pour le traitement de diverses maladies [144].

# **Chapitre 02 : Métabolites secondaires**

**I. Définition générale**

Le métabolisme (du grec: métabole, changement) est un processus très dynamique, ses molécules sont constamment mises à jour; la composition de la cellule à un moment donné est l'équilibre entre synthèse et décomposition. La majeure partie de la synthèse est dirigée vers la production de molécules importantes pour la structure et la fonction des cellules. Les métabolites secondaires sont très nombreux, plus de 200000 structures définies, diversité structurelle anormale, mais produites en petites quantités [93].

Ces molécules ne se retrouvent pas chez toutes les espèces, elles n'interfèrent donc pas avec les activités de base des organismes végétaux (croissance, développement, reproduction), s'accumulent après élaboration, mais ne peuvent pas être décomposées [57].

**II. Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont produits en très petites quantités, dans ce cas, il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon l'affiliation chimique des terpènes, des alcaloïdes, des composés acétyléniques, des cires et des composés phénoliques [04].

Ils sont divisés principalement en trois grandes familles [04] :

- Les polyphénols.
- Les terpènes.
- Les alcaloïdes.

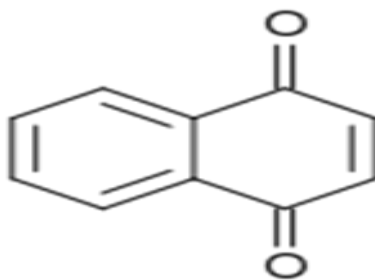
**III. Les polyphénols**

Par définition, on peut dire que les polyphénols sont des composés phénoliques hydrosolubles d'un poids moléculaire de 500 à 3000 daltons. Ils sont concentrés dans différentes parties de la plante selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considéré [07].

Ces composés sont très divers, des acides phénoliques simples aux grands polymères complexes [07].

**III.1. Les quinones**

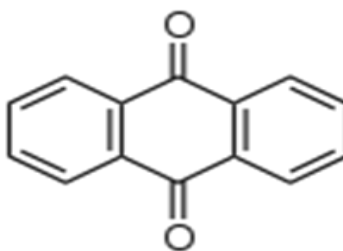
Ce sont des substances colorées et brillantes, généralement rouges, jaunes ou oranges, avec deux fonctions cétoniques. Les quinones se trouvent dans les plantes, les champignons et les bactéries. Les quinones sont utilisées dans les colorants, les produits pharmaceutiques et les fongicides [70].



**Figure 08 :** Structure chimique des quinones. [117]

### III.2. Les anthraquinones

Les anthraquinones appartiennent à la famille chimique des hydrocarbures aromatiques polycycliques, ce sont des dérivés d'anthracènes. Naturellement présente dans un certain nombre d'animaux et de plantes, elle est également une substance active dans les produits phytopharmaceutiques (ou pesticides), et a un effet répulsif sur les oiseaux. Plus généralement, l'anthraquinone est un composé qui a ce motif dans sa structure [124].



**Figure 09 :** La formule générale des anthraquinones. [124]

### III.3. Les flavonoïdes

#### III.3.1. Définition

Le nom "flavonoïdes" représente une très large gamme de composés polyphénoliques. Ces composés représentent le groupe le plus diversifié de composés phénoliques. Il est dû à la couleur jaune qu'ils produisent (=flavus en latin) [07].

#### III.3.2. Structure

Aujourd'hui, plus de 9000 flavonoïdes ont été identifiés, et leur nombre ne cesse d'augmenter [20]. Ils ont une origine biosynthétique commune et peuvent donc tous se lier hydroxyle, oxygène, groupe méthyle ou sucre avec le même squelette de 2 atomes de carbone, constitué de 10 à 15 noyaux aromatiques (noyaux A et B) et de cycles hétérocycliques oxygénés (cycle C), au noyau de cette molécule [141].

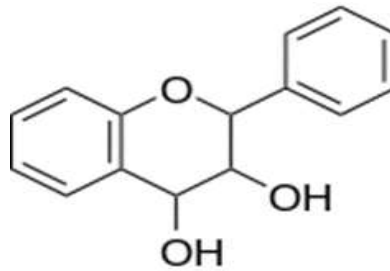


Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes. [19]

III.3.3. Localisation et distribution

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des plantes supérieures selon le type d'espèce: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, arbres ..... [07].

<i>flavonoïdes</i>	<i>aliment</i>
<i>flavonols</i>	
kaempférol	Radis, brocoli, thé noir
quercétine	Oignon, pomme, olive, tomate
myricétine	Canneberge, vin rouge
Quercétine-3-glucoside	oignon
Quercétine-3-rhamnoglucoside (rutine)	Thé noir
<i>flavones</i>	
chrysrine	Peau des fruits
apigénine	Persil, thym, romarin, céleri
lutéoline	Persil, céleri
Lutéoline-7-apiosylglucoside	Poisson rouge
<i>flavonones</i>	
naringénine	Fruits des genres <i>citrus</i>
Hesperidine-7-rhamnoglucoside (hesperidine)	Jus d'orange
Naringénine-7-rhamnoglucoside (narirutine)	Jus d'orange
<i>Flavan-3-ols</i>	
épicatéchine	Thé vert, thé noir
catéchine	Thé vert, thé noir, pomme
épigallocatéchine	Vin rouge
<i>Anthocyanidol</i>	
cyanidol	Cassis, myrtille
malvidol	Raisin, fraise, cassis
apigénidol	Framboise, fraise
<i>isoflavones</i>	
Genistéine-7-glucoside	soja
Daidzéine-7-glucoside	soja

Figure 11 : Sources alimentaires des flavonoïdes. [19]

III.4. Les tannins

Le tanin, ou tannin, est un composé de la famille des phénols d'origine végétale et contient de la cellulose (35-50% de la biomasse terrestre), de l'hémicellulose (30-45%) et de la lignine (15-25%), qui ont la capacité de précipiter des protéines, des alcaloïdes ou des polysaccharides en solution aqueuse après les biopolymères qui composent la paroi végétale [27].



Dans les écosystèmes terrestres dominés par la biomasse végétale morte ou vivante, les tanins et leurs dérivés forment la quatrième famille de composés par ordre d'abondance et diffèrent par leur taille et leur structure chimique, il en existe une grande diversité [111].

Placés dans les vacuoles et les parois cellulaires, ils représentent moins de 1% du poids sec de la plante, mais 15-25% pour les feuilles, jusqu'à 40% pour l'écorce et 50% pour certains objectifs [59].

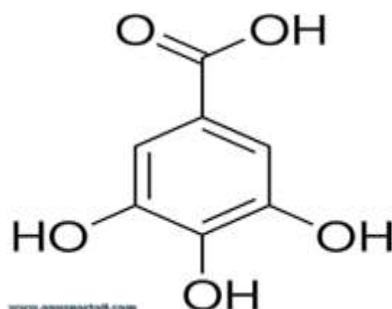


Figure 12 : Structure de base des tanins. [19]

#### III.4.1. Classification des tanins

Les gallo-tanins sont des tanins formés à partir des unités galoyles ou de leurs dérivés méta-dépcidines liés à divers polyols, flavanols ou unités triterpénoïdes.

Les ellagitanins sont des tanins dans lequel au moins deux unités C-C galloyle se lient l'une à l'autre et se forment sans unités flavanoliques (catéchines) ni liaisons glycosides.

Les tanins complexes sont des tanins formés par des unités gallo-tanins ou ellagitanine qui contiennent des liaisons glycosides au flavanol.

Les tanins condensés sont des proanthocyanidols qui contiennent une liaison entre C-4 dans les unités flavanol et C-8 (ou C-6) dans un autre monomère flavanol [73].



Figure 13 : Classification des tannins selon leurs structures chimiques. [25]

IV. Les coumarines

La coumarine est une substance aromatique organique naturelle. Sa formule chimique est C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>. Connue dans la nomenclature internationale sous le nom de 2H-1-benzopyrane-2-1, c'est une molécule qui peut être considérée en première approximation comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique.

La coumarine dans le même terme désigne également cette dernière molécule, une classe de composés phénoliques dérivés de la 2H-1-benzopyrane-2-1. Ces composés ont des groupes hydroxyle phénoliques qui peuvent être impliqués dans la méthylation ou les liaisons hétérosides, qui constituent ensuite la génine. Plus d'un millier de coumarines naturelles sont répertoriées. Ils sont très largement répartis dans le règne végétal [98].

V. Les stéroïdes

Abondants chez les plantes et les animaux, ils ont une structure chimique qui contient en commun un squelette de perhydrocyclopentanophénanthrène. Ils comprennent généralement des groupes méthyle en C-10 et C-13, et souvent des chaînes alkylées en C-17.

Les stérols contiennent de l'hydroxyle en position c-3 et sont des affixes spécifiques selon que le substituant est au-dessous ou au-dessus du plan de la molécule projetée. Ce ne sont pas des terpènes, mais sont bio-génétiquement dérivés de triterpènes [26].

VI. Les stérols

Les stérols végétaux, également appelés stérols végétaux, sont en quelque sorte du cholestérol dans le monde végétal. Ce sont des substances dont la structure chimique est très proche de la structure chimique du cholestérol sanguin humain [97].

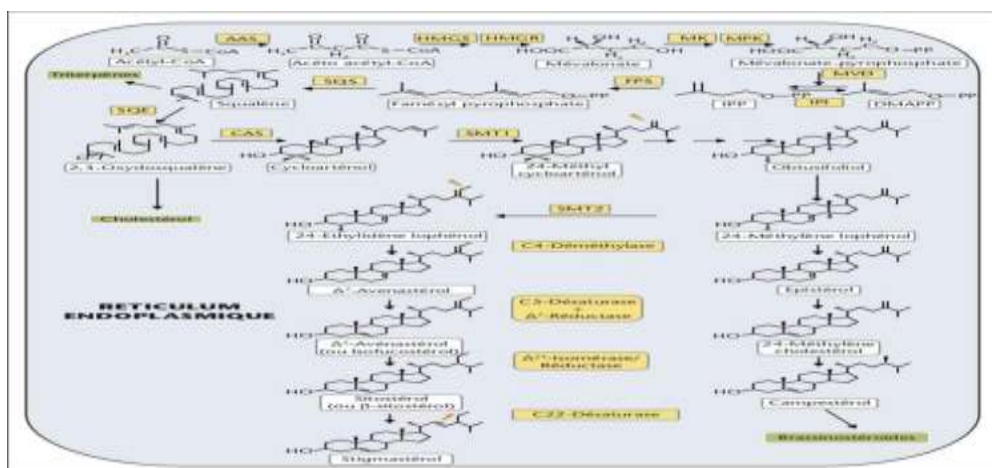


Figure 14 : Synthèse des phytostérols du tournesol. [97]

**VII. Les terpènes**

Le terpène est un composant organique aromatique dérivé de l'isoprène (un hydrocarbure de 5 atomes de carbone) que l'on retrouve dans tous les types de plantes et qui est important dans de nombreuses interactions biologiques [56], ils sont une source d'arôme et de goût, mais ont également des propriétés et des bienfaits très importants connus depuis la nuit des temps. Ils ont plusieurs effets sur ces plantes, tels que la protection, la défense, la reproduction ou affectant leur maturation et leur métabolisme [56].

**VII.1. La classification des terpènes**

Les terpènes par leur structure chimique sont similaires à ceux des terpènes, qui sont classés en fonction du nombre d'unités isoprène présentes, et dans le cas des triterpènes, ils sont classés lorsqu'ils circulent [56].

**Tableau 06 : La classification des terpènes. [56]**

<b>Classification</b>	<b>Unité d isoprène</b>	<b>Les atomes de carbone</b>
<b>Emiterpenes</b>	<b>1</b>	<b>5</b>
<b>Monoterpènes</b>	<b>2</b>	<b>10</b>
<b>Sesquiterpènes</b>	<b>3</b>	<b>15</b>
<b>Diterpènes</b>	<b>4</b>	<b>20</b>
<b>Sesterpènes</b>	<b>5</b>	<b>25</b>
<b>Triterpènes</b>	<b>6</b>	<b>30</b>
<b>Polyterpènes</b>	<b>&gt;6</b>	<b>&gt;30</b>

**VIII. Les saponosides**

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes. Ils sont présents dans tous les organes, mais surtout dans les racines et sont localisés dans les vacuoles. Ils sont constitués d'os et de génine (acide polyglacique) [26].

# **Chapitre 03 :**

# **Activités biologiques**

**I. Activité antibactérienne****I.1. Généralités**

Un antibiotique désigne un composé antibactérien, pouvant être produit par des micro-organismes tels que des champignons et des bactéries, ou élaboré de manière synthétique. Son rôle est d'entraver la multiplication ou de causer la destruction des micro-organismes [154].

Le traitement des infections bactériennes repose principalement sur l'utilisation des antibiotiques. Cependant, l'utilisation excessive et inappropriée de ces médicaments peut conduire à la sélection de souches bactériennes résistantes. Il est donc crucial d'orienter les recherches vers de nouvelles voies, telles que l'exploration des plantes pour leurs propriétés médicinales. Les composés phénoliques, qui sont des métabolites secondaires présents dans les plantes, ont des applications variées dans l'industrie alimentaire, cosmétique et comme agents antimicrobiens dans la médecine traditionnelle [38].

**I.2. Les bactéries**

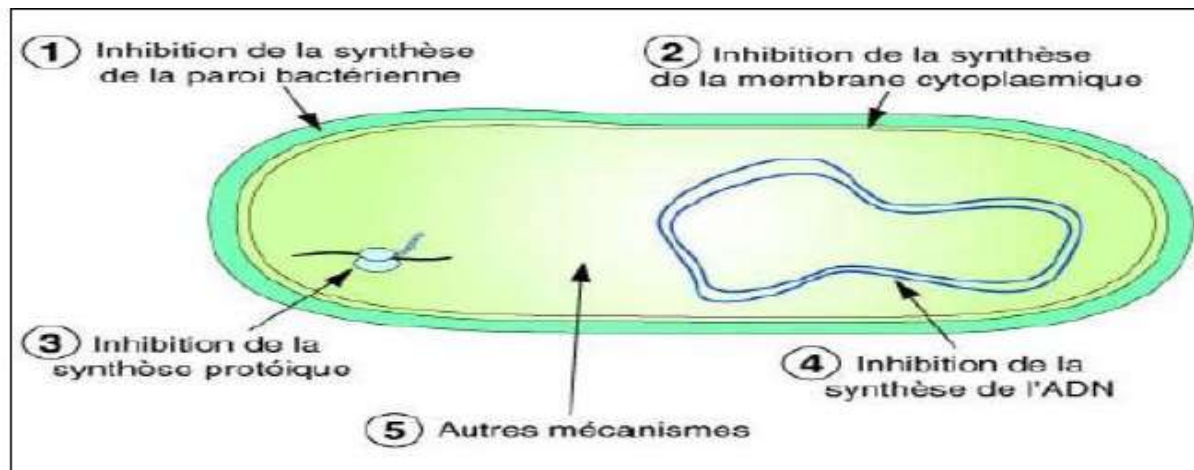
Les bactéries, des organismes microscopiques unicellulaires procaryotes, ont une taille typique de quelques micromètres (généralement entre 0,5 et 10  $\mu\text{m}$ ). Elles peuvent adopter diverses formes, telles que des sphères (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacilles), ainsi que des formes spiralées (spirilles). Leur poids moyen est d'environ 10-12 g, avec une teneur en eau d'environ 70% par rapport au poids sec [60].

**I.3. Les antibiotiques**

Les antibiotiques, issus de la combinaison des mots grecs anti (contre) et bios (vie), se réfèrent à des substances chimiques qui possèdent la capacité de stopper la croissance ou de tuer les micro-organismes nuisibles. Ces composés sont généralement produits naturellement par des moisissures et des bactéries [24].

**I.4. Mode d'action des antibiotiques des plantes contre les bactéries**

Les antibiotiques ont généralement deux modes d'action certains agissent comme des agents bactéricides en tuant les bactéries, notamment les bêta-lactamines, les aminosides et les polypeptides, tandis que d'autres agissent comme des agents bactériostatiques en inhibant la croissance bactérienne et en détruisant les bactéries, notamment les tétracyclines, les phénicolis et les macrolides [33].



**Figure 15:** Les objectifs des antibiotiques [102].

## I.5. Les micro-organisme utilisé dans les tests antibactériens

### I.5.1. *Escherichia coli*

Il s'agit d'une bactérie Gram négatif qui se trouve naturellement dans le tube digestif des humains et des animaux. Elle n'a pas de forme sporulée, préfère l'environnement aérobie, et est généralement mobile grâce à ses flagelles. Sa taille varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ . *E. coli* est la bactérie la plus couramment associée aux infections aiguës des voies urinaires [08].

### I.5.2. *Staphylococcus aureus*

Il s'agit de bactéries cocci Gram positif mesurant entre 0,5 et 1,5  $\mu\text{m}$  de diamètre, de type non sporulé et capables de vivre en milieu anaérobie facultatif. *Staphylococcus aureus* est fréquemment associé aux infections postopératoires, à l'endocardite aiguë et aux cas d'intoxication alimentaire [129].

*Staphylococcus aureus* est la principale espèce, pouvant provenir de diverses sources telles que l'homme, les animaux (comme les volailles, bovins, ovins, caprins...), l'environnement ou d'autres sources non spécifiques [41].

### I.5.3. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif qui présente une forme non sporulée. Elle est aérobie, mobile grâce à 1 à 2 flagelles et synthétise divers pigments pyocyanine (bleu phénazine) et pyoverdine (jaune vert). Ces bactéries sont résistantes à plusieurs antibiotiques [145].

## II. L'activité analgésique

### II.1. Douleur

La sensation de douleur est une réaction sensorielle ou émotionnelle désagréable liée à une altération tissulaire actuelle ou potentielle [95]. Elle joue un rôle crucial en signalant un

danger et en incitant à l'évitement ou à la fuite, ce qui en fait une fonction protectrice essentielle et une réaction adaptative à des stimuli potentiellement nocifs ou dommageables [150]. Le nociception désigne quant à elle le processus sensoriel à l'origine du message nerveux qui déclenche cette sensation de douleur [32].

**II.2. Classification de la douleur**

La catégorisation de la douleur se fonde sur deux principaux critères :



Selon le profil évolutif :

**2.1. Douleur aiguë**

La douleur aiguë représente un signal vital pour le corps, survenant soudainement pour indiquer une lésion tissulaire causée par un traumatisme tel qu'une rupture, une brûlure ou une distension. Ce type de douleur est généralement lié à un processus inflammatoire aiguë [85].

**2.2. Douleur chronique**

Une douleur chronique se manifeste sur une période de plus de 3 mois, résistant aux traitements habituels et engendrant des répercussions significatives sur le plan psychologique et social pour le patient [84].

**Tableau 07** : une comparaison entre la douleur aiguë et la douleur chronique [85].

<b>Caractéristiques</b>	<b>Douleur aiguë Les (symptômes)</b>	<b>Douleur chronique (syndrome)</b>
<b>Finalités biologiques</b>	Utile – Protectrice – signal d’alarme	Inutile – Destructrice – Maladie à part entière
<b>Durée</b>	Transitoire (<à 3 mois) – Réversible si lésion traitée	Répétitive ou durable (> à 3 mois) – Persistante
<b>Mécanisme générateur</b>	Essentiellement nociceptif	Nociceptif, neuropathique ou psychogène
<b>Comportement</b>	Réactionnel	Acquis
<b>Composante affective</b>	Anxiété	Dépression
<b>Attitude thérapeutique</b>	Curative – Répond à un traitement médical classique	Réadaptative – Approche plurimodale

➔ Selon le profil physiopathologique :

### **2.3. Douleur nociceptive**

La douleur nociceptive se déclenche par l'activation des neurones primaires afférents, les nocicepteurs, et est amplifiée par un état inflammatoire suite à une blessure ou une lésion. Un exemple en est la douleur postopératoire, temporaire, généralement intense, ayant une fonction biologique de protection et qui rarement s'accompagne de manifestations psychologiques [104].

### **2.4. Douleur neuropathique**

Les douleurs décrites surviennent lorsque le système nerveux est affecté dans sa capacité à transmettre les sensations. Lorsque les fibres nerveuses sensibles sont endommagées, elles peuvent transmettre des informations incorrectes, conduisant le patient à ressentir des brûlures, des décharges électriques, des démangeaisons, des picotements, des sensations de froid douloureuses et des fourmillements dans des zones du corps qui paraissent normales, bien que la douleur soit réelle [84].

### **2.5. Douleur inflammatoire**

L'hypersensibilité à la douleur qui se manifeste spontanément suite à une blessure tissulaire et à une inflammation est connue sous le nom de douleur inflammatoire (par exemple, douleur postopératoire, traumatisme, arthrite) [51].

## **II.3. Traitement de la douleur**

Actuellement, diverses méthodes sont employées pour traiter la douleur. Les douleurs légères sont généralement traitées à l'aide d'analgésiques ou d'antalgiques, notamment l'aspirine, le paracétamol et les anti-inflammatoires sans corticoïdes. En revanche, pour les douleurs plus intenses, on recourt à des analgésiques narcotiques similaires à la morphine. D'autres approches telles que la mésothérapie, l'acupuncture et la cryothérapie sont également envisagées comme des alternatives viables [61].

## **III. L'activité antipyrétique**

### **III.1. La fièvre**

La fièvre est un processus de défense naturelle du corps qui se produit lorsque la régulation de la température est perturbée pour des raisons pathologiques. Cela représente souvent une réponse défensive contre une perturbation interne qui déclenche divers mécanismes immunitaires et inflammatoires [139], [94].



**III.2. Les types de fièvres****2.1. La fièvre aiguë**

En règle générale, la fièvre survient suite à des infections virales ou bactériennes. Ses signes apparaissent subitement et se dissipent rapidement. Elle peut également résulter d'une exposition excessive à la chaleur (comme lors d'une canicule) ou à un effort physique intense. De plus, elle peut être déclenchée par une réaction inflammatoire temporaire sans présence d'infection [119].

**2.2. La fièvre persistante**

Dans 40% des situations, elle est associée à des infections, tandis que dans 20% des cas, elle est liée à des cancers et à des maladies inflammatoires., le diagnostic précis est possible grâce à un interrogatoire médical approfondi et à un examen clinique [87].

**2.3. La fièvre chronique**

Elle résulte souvent d'infections associées à des troubles du système nerveux central, notamment des hémorragies. Cette condition persiste sur le long terme et est fréquemment observée dans des maladies inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite et le lupus [86].

**III.3. Traitement de la fièvre**

Certains médicaments spécifiques, comme le paracétamol (antalgique), l'aspirine, l'ibuprofène ou le diclofénac (anti-inflammatoire non stéroïdien), sont utilisés pour réduire la fièvre. Il est essentiel de traiter la cause sous-jacente de la fièvre en premier lieu [47].

**IV. L'activité anti-ulcère****IV.1. Généralités sur les ulcères gastriques**

L'ulcère gastrique se caractérise par une lésion plus ou moins profonde de la paroi interne de l'estomac, provoquée par une rupture de la continuité tissulaire. Les symptômes typiques incluent des douleurs abdominales, parfois accompagnées de vomissements et de la présence de sang dans les vomissures [116].

**IV.2. Classification des ulcères gastriques**

La classification des ulcères gastriques diffère selon les différents auteurs ; [42], il existe deux types d'ulcères gastriques.

**2.1. Les ulcères aigus**

Les ulcères aigus peuvent se diviser en deux catégories distinctes :

Les ulcères aigus primitifs, qui se caractérisent par des lésions de la muqueuse et de la musculaire muqueuse. Ils touchent principalement des individus jeunes sans antécédents

digestifs pathologiques et se manifestent généralement par des saignements importants dès le début.

Les ulcères aigus secondaires, qui se classent en trois types en fonction de leur origine :

- Les ulcérations causées par des problèmes de vascularisation.
- Les ulcérations induites par des médicaments ou iatrogènes.
- Les ulcérations d'origine neurogénique, comme l'ulcère de Cushing.

## **2.2. Les ulcères chroniques**

Quant aux ulcères chroniques, ils résultent d'un processus évolutif sur plusieurs années, marqué par des phases successives de nécrose et de sclérose interstitielles. Une analyse morphologique permet de distinguer trois groupes :

- L'ulcère jeune non compliqué.
- L'ulcère compliqué.
- L'ulcère invétéré, également connu sous le nom d'ulcère calleux, est une forme d'ulcère qui a progressé sur de nombreuses années.

## **IV.3. Traitement de l'ulcère gastrique**

De nombreux traitements sont employés pour soigner l'ulcère, notamment les inhibiteurs de la pompe à protons (comme l'Oméprazole et le Lansoprazole) ainsi que les inhibiteurs des récepteurs histaminiques (tels que la Ranitidine et la Famotidine). Les agents antacides agissent en neutralisant la production d'acide [148].

## **V. L'activité anti-inflammatoire**

### **V.1.L'inflammation**

La première réaction ressentie par le patient est souvent l'inflammation, un processus impliquant des réponses immunitaires. Ce mécanisme est généralement bénéfique car il vise à éliminer les agents pathogènes et à réparer les dommages. Cependant, il peut aussi être nuisible en raison de l'agressivité ou de la persistance du pathogène, de l'emplacement de l'inflammation, ou encore des anomalies dans les mécanismes de régulation qui entraînent des changements quantitatifs et qualitatifs dans les populations cellulaires impliquées [37].

### **V.2. Les anti-inflammatoires**

Les inflammations aiguës peuvent se résorber naturellement ou grâce à un traitement impliquant des anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens. Ces médicaments, bien qu'efficaces, peuvent entraîner des effets secondaires tels que des problèmes digestifs (comme des ulcères gastroduodénaux, des sténoses ou des perforations) et des complications rénales (comme une insuffisance rénale aiguë ou une rétention hydrosodée) [155].

**2.1. Anti-inflammatoires stéroïdien**

Les médicaments dérivés du cortisol, comme les anti-inflammatoires stéroïdiens ou les glucocorticoïdes, sont largement utilisés pour traiter efficacement les maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, les maladies inflammatoires de l'intestin et les maladies auto-immunes [115].

**2.2. Anti-inflammatoires non-stéroïdien**

Depuis plus de 3000 ans, les anti-inflammatoires non stéroïdiens se sont avérés efficaces pour soulager la douleur, réduire la fièvre et combattre l'inflammation, et ils continuent d'être largement utilisés dans le monde entier par des millions de patients au quotidien. Ces médicaments ont des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques, et bien qu'ils présentent une grande diversité chimique, leur mécanisme d'action repose sur l'inhibition non sélective de l'enzyme cyclooxygénase [22].

**VI. L'activité antidiabétique****VI.1. Le diabète**

Le diabète est une pathologie caractérisée par des mécanismes physiopathologiques complexes et une base génétique importante, qui entraîne le développement de diverses complications. Il regroupe plusieurs maladies métaboliques avec pour point commun une élévation anormale du taux de glucose dans le sang, causée par des problèmes de sécrétion d'insuline, de son action, ou les deux [48].

**VI.2. Les principaux types de diabète**

Il y a trois formes principales de diabète : le type 1, le type 2 et le diabète gestationnel. On qualifie une personne de diabétique lorsque ses niveaux de sucre dans le sang atteignent ou dépassent certaines valeurs critiques : soit 1,26 g/L à jeun à deux reprises, soit 2 g/L à n'importe quel moment de la journée, en présence de symptômes tels qu'une soif excessive, des envies fréquentes d'uriner et une perte de poids, ou encore 2 g/L deux heures après la prise de 75 g de glucose.

**2.1. Diabète type 1**

Le diabète de type I, connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, se manifeste généralement de manière soudaine chez les enfants ou les jeunes adultes. Ses symptômes incluent une perte de poids, une sensation accrue de soif et une production excessive d'urine (polyurie). La glycémie dépasse généralement 2 g/l et des corps cétoniques sont détectables dans les urines [12].

**2.2. Diabète type 2**

Le diabète de type II, également appelé diabète non insulino-dépendant, est la forme la plus courante de la maladie, représentant plus de 90 % des cas à l'échelle mondiale. Il affecte principalement les adultes de plus de 40 ans [74]. Les mécanismes initiaux qui déclenchent cette maladie sont complexes et impliquent probablement plusieurs facteurs, faisant du diabète de type II une maladie hétérogène où les influences génétiques et environnementales interagissent [09].

**2.3. Autres types de diabète**

Le diabète secondaire peut résulter de diverses causes telles que des troubles pancréatiques (pancréatite chronique ou aiguë, tumeur, hémochromatose), des maladies endocriniennes (phéochromocytomes, acromégalie, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, tumeurs endocrines pancréatiques et digestives), des anomalies génétiques des cellules  $\beta$  (diabète MODY et diabète mitochondrial), ou encore de l'exposition à certains médicaments, produits chimiques ou substances toxiques [02], [31], [108].

**VII. Activité antioxydante****VII.1. Les antioxydants**

Un antioxydant peut être décrit comme une substance chimique relativement complexe qui, à des concentrations faibles, peut rivaliser avec d'autres substrats susceptibles d'être oxydés, retardant ainsi ou prévenant leur oxydation. Ces composés jouent un rôle essentiel dans la protection contre les dommages moléculaires liés à l'oxydation [49].

**VII.2. Classification des antioxydants**

Il y a diverses catégories et origines d'antioxydants [15].

**2.1. Endogène**

**Superoxyde dismutases:** Ces enzymes agissent en convertissant les radicaux superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène, neutralisant ainsi les espèces réactives d'oxygène.

**Catalases :** Elles décomposent le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, jouant un rôle crucial dans la détoxification des cellules.

**Glutathion peroxydases :** Ces enzymes utilisent le glutathion pour réduire le peroxyde d'hydrogène et d'autres peroxydes organiques, protégeant ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs.

**2.2. Exogène**

**Polyphénols** : Ce sont des composés présents dans de nombreux aliments d'origine végétale tels que les fruits, les légumes, le thé et le vin. Ils ont des propriétés antioxydantes qui aident à neutraliser les radicaux libres.

**Vitamines** : Des vitamines comme la vitamine C (acide ascorbique), la vitamine E (tocophérols) et la vitamine A (caroténoïdes) agissent comme des antioxydants en protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres.

**Oligo-éléments** : Parmi les oligo-éléments, on trouve le sélénium, le zinc et le cuivre qui, lorsqu'ils sont présents en quantités adéquates dans l'organisme, contribuent à la défense contre le stress oxydatif en agissant comme cofacteurs d'enzymes antioxydantes.

**VII.3. Stress oxydant**

Le stress oxydatif se caractérise par un déséquilibre entre les mécanismes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Ce déséquilibre peut résulter d'une diminution des systèmes de défense antioxydants ou d'une augmentation de la production de radicaux libres [107].

**VIII. La toxicité**

La toxicologie explore les impacts néfastes des produits chimiques sur les êtres vivants, nécessitant une variété de savoirs scientifiques et s'intéressant à divers domaines comme l'agriculture, l'alimentation, la pharmacologie, l'environnement, et plus encore [161].

# **La deuxième partie : Etude expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

**Matériel et méthodes**

**I. Tests phytochimiques**

**I.1. Matériel végétal**

- Notre étude a porté sur deux espèces formé de deux familles différentes :

**La première espèce :** *Origanum majorana* L. Famille de Lamiaceae.



**Figure 16 :** L'espèce *Origanum majorana* L.

**La deuxième espèce :** *Saussurea lappa* L. Famille des Asteraceae.



**Figure 17 :** L'espèce *Saussurea lappa* L.



### I.1.1 La récolte de la matière végétale

La matière végétale est obtenue à partir d'un vendeur de plantes médicinales de la région de Chelghoum Laid, Mila.

### I.1.2. Broyage des parties secs

Les organes des plantes sélectionnées (parties aériennes d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L.) ont été broyés dans un mortier pour obtenir une poudre fine utilisable.

### I.1.3. Extraction de métabolites secondaires

#### ➤ Objectif

Cette étape consiste à extraire un maximum de molécules chimiques des parties aériennes d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L. à l'aide de solvants organiques qui accélèrent la vitesse d'extraction et augmentent le volume d'extraction.

#### ➤ Macération

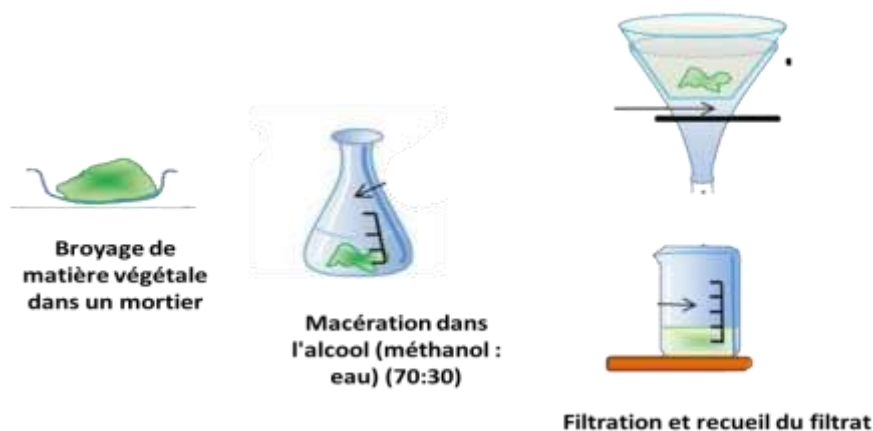
#### Principe

La macération est une méthode qui consiste à mettre en contact prolongé des plantes en poudre avec un solvant afin d'en extraire les principaux principes actifs. Elle s'effectue à température ambiante et est donc très adaptée au maintien de l'intégrité moléculaire.

#### Protocole

100 g des parties aériennes de la plante *Origanum majorana* L. et 100 g des racines de la plante *Saussurea lappa* L. ont été placés sous forme de poudre dans un flacon contenant un mélange de solvant : (méthanol : eau) (70:30) et macérés pendant 72 heures.

Cette opération a été répétée 03 fois. Le trempage hydroalcoolique a été filtré. Le filtrat hydroalcoolique a été concentré à sec sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif.



**Figure 18** : Les étapes d'obtention des extraits de plantes.

➤ **Évaporation**

Les extraits hydroalcooliques obtenus sont concentrés sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor) à une température contrôlée entre 37 °C et 40 °C.

**I.2. Détection des polyphénols**

**I.2.1. Détection des quinones libres**

1g de matière végétale séchée et broyée a été placé dans un flacon avec 50-60 ml d'éther de pétrole, agités et laissés reposer pendant 24 heures.

La présence de quinones libre est confirmée par l'ajout du réactif NaOH (10%) à l'extrait éthérique et que la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violette [123].

**I.2.2. Criblage des anthraquinones**

1g de plante séchée et broyée a été placé dans un flacon avec 50-60 ml de chloroforme, agité et laissé reposer pendant 24 heures.

La présence d'anthraquinones est confirmée par l'addition du réactif KOH (10 %) à l'extrait chloroformique par le virage au rouge de la phase aqueuse [124].

**I.2.3. Criblage des flavonoïdes**

**Les flavonoïdes sont détectés par le test de Wilstater**

Mettre 03 ml d'extrait hydro-alcooliques dans un tube et ajouter 3-4 gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré avec 03-04 tournures de magnésium, Observer le changement de couleur. L'apparition de tons roses, rouges ou orangés indique la présence de flavonoïdes [160].

**I.2.4. Criblage des tannins**

100 mg d'extrait hydrométhanolique sont dissout dans 25 ml d'eau distillée chaude puis additionné de trois à quatre gouttes de NaCl 10%. La solution ainsi obtenue est filtrée. Le filtrat est ensuite reparti dans trois tubes à ainsi, le 3ème tube servant de témoin :

- Tube 01 : Addition de quatre à cinq gouttes de gélatine l'apparition d'une précipitation par signifie la présence de tanins.
- Tube 02 : Addition de quatre à cinq gouttes de FeCl<sub>3</sub> en solution hydrométhanolique. La couleur vire au bleu noirs en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchique [124].

**I.3. Détection des Stérols, stéroïdes et terpènes**

Dépigmenter 100 mg d'extrait méthanolique par addition de 10ml de cyclohexane et agitation pendant 5 minutes et dissoudre le résidu dépigmenté dans 12 ml de chloroforme.

Sécher la solution obtenue sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre, puis filtrer. Répartir le filtrat dans quatre tubes à essai :

**Tube 01 : témoin**

**Tube 02 : Test de Salkowosko**

Incliner le tube à 45°C, ajouter 4 à 5 gouttes de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration, une couleur rouge indique la présence de stérois insaturés.

**Tube 03 : Test de Libermann-Buechard**

Additionner quatre gouttes d'anhydride acétique puis agiter légèrement. Ajouter une goutte de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Le changement de coloration est observé pendant une heure.

Une couleur bleu-vert indique la présence de stéroïdes tandis que rouge-violet à rose dénote la présence de triterpènes.

**Tube 04 : test de Badjet-Kedde**

Additionner quelques grains d'acide picrique. L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques.

#### **I.4. Détection des coumarines**

##### **I.4.1. Préparation de l'éluant**

Mélange de toluène et d'acétate d'éthyle (34:14)

##### **I.4.2. Préparation des plaques CCM**

Dans la plaque préparée à CCM on dépose sur la ligne de dépôt nos échantillons (extraits méthanoliques) du différents organes des plantes étudiées et on met les plaque CCM dans la cuve pendant la migration des échantillons. La visualisation du chromatogramme, après migration, se fait à 254 nm et 365 nm.

#### **I.5. Détection des saponosides**

Afin d'identifier rapidement les organes avec des saponosides, il suffit de souligner leur pouvoir inanimé en agitant simplement cette poudre en présence d'eau distillée (pendant 15 secondes) et en observant les bulles très fines qui se forment après une durée d'au moins 10 minutes.

1 g de poudre végétal est introduit dans des tubes avec 10 ml d'eau distillée puis on chauffe le mélange au bain marie à 85°C Pendant 20 min, après on agite vigoureusement chaque tube, en position horizontale pendant 15 secondes environ portoir, après 10 min au repos on compare les hauteurs des mousses [46].

- Pas de mousse = Test négatif.
- Mousse de moins de 1cm =Test positif faible.
- Mousse de 1 à 2cm =Test positive.
- Mousse de plus de 2cm = Test très positif. [76].

## **I.6. Dosage des composés phénoliques totaux**

### ➤ **Principe**

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [135] selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par (Muller *et al*, 2010) [99].

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), est réduit, lors de l'oxydation des phénols. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

La concentration en polyphénols totaux est estimée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0,2 mg/ml).

### ➤ **Protocole**

Un volume de 20µl d'extrait de plante a été ajouté à 100µl de FCR dilué (1 :10) et 75µl de carbonate de sodium (7,5%). Dans une microplaque 96 puits, mettre le mélange à l'obscurité pendant deux heures puis la lecture est faite à 765 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

## **I.7. Dosage des flavonoïdes**

### ➤ **Principe**

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) et les flavonoïdes selon la méthode de (Topçu *et al*, 2007) [142] et utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

### ➤ **Protocole**

Un volume de 50µl de l'extrait diluée est ajouté à 20µl  $NaNO_2$  suivi par 20µl  $AlCl_3$  et 100 µl  $NaOH$ , après 40 min l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 415 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol.

La Quercétine a été utilisée comme une courbe d'étalonnage des flavonoïdes à une concentration de 0,2 mg/ml.

## II. Evaluation des activités biologiques

### II.1. L'activité antibactérienne

#### ➤ Matériel végétal

Il s'agit d'extraits méthanoliques de feuilles d'*Origanum majorana* L. (EMOM) et de racines de *Saussurea lappa* L. (EMSL).

#### ➤ Souches testées

- Bactéries à gram positif (*staphylococcus aureus*)
- Bactéries à gram négatif (*Escherichia coli*)

#### ➤ Protocole expérimental

Les extraits méthanoliques ont été appliqués sur deux souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) à l'aide d'une méthode de disque basée sur la diffusion en gélose [118].

### Préparation de l'extrait

**Tableau 08 :** Séries de dilutions réalisées à partir d'extraits méthanoliques.

Dilution	Préparation	Concentration
C1 (200%)	20mg d'extrait méthanolique de chaque plante dilué dans 1 ml de méthanol.	20mg/ml
C2 (150%)	15mg d'extrait méthanolique de chaque plante dilué dans 1 ml de méthanol.	15mg/ml
C3 (100%)	10mg d'extrait méthanolique de chaque plante dilué dans 1 ml de méthanol.	10mg/ml
C4 (50%)	5mg d'extrait méthanolique de chaque plante dilué dans 1 ml de méthanol.	5mg/ml

### Préparation de pré-culture bactérienne

L'étude a nécessité des conditions stériles avec un bec Bunsen, des boîtes de Pétri et des instruments stériles. Après refroidissement, le milieu de sélection dissous a été placé dans une boîte de Pétri stérile et laissé à geler [101].

### Revivification des souches bactériennes

Une ou deux colonies ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur stérile, et chaque souche a été inoculée et revivifiée dans des boîtes de pétri contenant du milieu de sélection et incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

### Préparation de suspensions bactériennes

Prélever deux ou trois colonies dans une anse stérile et les suspendre dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique. Après agitation, bien homogénéiser à l'aide d'un vortex.

### **Ensemencement**

A ce stade, des boîtes de Pétri contenant du milieu de Müller-Hinton sont ensemencées avec une culture de 24 heures de la souche. Pour ce faire, une suspension microbienne à une densité de 0,2-0,3 est ensemencée à l'aide d'un Coton Tige (écouvillons de prélèvement) ou d'une pipette Pasteur.

### **Préparation des disques**

À l'aide de pinces stériles, quatre disques stériles de 5 mm de diamètre ont été trempés dans 30 µl de chaque extrait de plante à différentes concentrations et placés aseptiquement à la surface du milieu.

### **Incubation**

Les cultures bactériennes exposées aux extraits de plantes ont été refroidies à 4°C pendant 2 heures pour permettre aux extraits de bien pénétrer dans la gélose. Les cultures ont ensuite été incubées dans l'obscurité pendant 18 à 24 heures dans une étuve à 37°C.

### **Lecteur des résultats**

Une règle a été utilisée pour mesurer le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque auquel l'extrait a été ajouté. Les résultats ont été exprimés selon trois niveaux d'activité :

Souche résistante \_ (diamètre < 5 mm).

Souche sensible + (6 mm < diamètre < 11 mm).

Souche très sensible ++ (12 mm < diamètre < 17).

Extrêmement sensible +++ (diamètre ≥18).

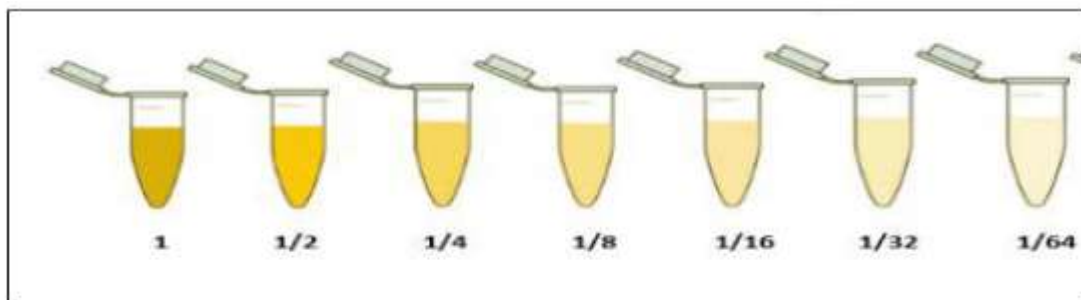
## **II.2. Activité anti-oxydantes**

### **➤ Préparation des échantillons**

- Mesurer avec précision 4 mg de chaque extrait (méthanolique) sur une balance.
- Dissoudre les 4 mg de chaque extrait dans 1 ml de méthanol dans des tubes à essai individuels (un tube par extrait).
- Placer les tubes dans un agitateur à ultrasons jusqu'à ce que les solutions soient homogènes.
- Pour chaque solution d'extrait, réaliser six dilutions selon l'équation 01 en ajoutant 0,5 ml méthanol à six tubes à essai de 1,5 ml chacun.

**Equation 01:(1/2<sup>n</sup>)**

**n:nombre de dilutions.**



**Figure 19:** les différentes dilutions de l'extrait

Remarque:

➤ **Avant la dilution :**

Dans le tube 01 on trouve un volume de 1ml ( $V=1$  ml) contient l'échantillon avec une concentration ( $C=1$ ).

- Dans les six autres tubes,  $V=0,5$  ml méthanol.

➤ **Après la dilution :**

- Dans les tubes 01-06 on trouve :  $V=0,5$  ml des échantillons dilués avec différentes concentrations.

- Dans le dernier tube :  $V=1$  ml,  $C=1/26 = 1/64$

**1-Activité antiradicalaire au DPPH•+**

➤ **Principe**

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH chromogène de couleur violette selon Blois, le  $\alpha$ -tocophérol, et Ascorbic acid sont utilisés comme standards antioxydants.

Cette approche se distingue par sa rapidité, sa sensibilité, sa facilité d'utilisation et sa faible consommation de réactifs.

➤ **Instruments utilisés**

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200  $\mu$ l pour chaque puits.

➤ **Réactifs utilisés**

1- Méthanol

2- DPPH

3- Extrait de plante

➤ **Mode opératoire**

➤ **Préparation de la DPPH**

Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à  $-20^{\circ}\text{C}$  à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

➤ **Procédure**

160 µl (DPPH) + 40 µl (extrait) + lecture 517

Le taux d'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (%) est calculé de la manière suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

La réalisation de cette activité permet de déterminer la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH

**2- Activité du piégeage du cation radical ABTS<sup>•+</sup> : ABTS scavenging activity**

➤ **Principe de la réaction :**

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et *al.* (1999) [121].

➤ **Instrument utilisé :**

Un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque

➤ **Réactifs utilisés :**

1- K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

2- ABTS

3- Eau distillé

4- Méthanol

➤ **Procédure :**

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> : les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Méthanol ou H<sub>2</sub>O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage

(ABTS<sup>•+</sup>) → 19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H<sub>2</sub>O + 3,3 mg (2.45 mM) (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) +5 ml H<sub>2</sub>O+ attendre 16 heures à l'abri de la lumière

➤ **Procédure**

160 (ABTS<sup>•+</sup>) + 40 µl (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm

-L'évaluation de l'inhibition d'ABTS en pourcentage est calculée de la manière suivante

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

La réalisation de cette activité permet d'établir la quantité d'extrait nécessaire pour réduire de moitié la concentration initiale du radical ABTS.

**3- Activité du pouvoir réducteur : Reducing power (FRAP)**

➤ **Principe de la réaction**

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode de Oyaizu [110] avec une légère modification.



➤ **Instruments utilisés :**

Lecteur de microplaque

➤ **Réactifs utilisés :**

1- TCA

2-  $K_3Fe(CN)_6$

3-  $FeCl_3$

4- phosphate buffer

5- Eau distillée

➤ **Procédure**

10  $\mu$ l extrait + 40  $\mu$ l phosphate buffer (pH 6.6) + 50  $\mu$ l potassium ferricyanide (1%)  $K_3Fe(CN)_6$  (1 g de  $K_3Fe(CN)_6$  dans 100 ml  $H_2O$ ) + incubé a 500C pendant 20mn +50  $\mu$ l tri-chloro acetic acid (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 ml  $H_2O$ ) + 40  $\mu$ l  $H_2O$  + 10  $\mu$ l ferric chloride  $FeCl_3$  (0.1%) (0,1 g de  $FeCl_3$  dans 100 ml  $H_2O$ ) + lecture à 700 nm.

Les résultats ont été calculés à titre de A0,5 ( $\mu$ g/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

**4- Activité de réduction par la formation du complexe  $Fe^{2+}$  : Phenanthroline activity**

➤ **Principe**

L'activité de phenanthroline est déterminée par la méthode de (Szydłowska-Czerniaka,2008) [140].

➤ **Instrument utilisés :**

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200  $\mu$ l pour chaque puits

➤ **Réactifs utilisés :**

1- Phenanthroline

2- Ferric chloride  $FeCl_3$

3- MeOH , Eau distillée

➤ **Préparation:**

- Phenanthroline (0.5%)

0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH

- Ferric chloride  $FeCl_3$  (0.2%)

0.02g de  $FeCl_3$  dans 10ml de  $H_2O$

➤ **Procédure :**

10  $\mu$ l extrait + 50  $\mu$ l  $FeCl_3$  (0.2%) +30  $\mu$ l Phenanthroline (0.5%) + 110 $\mu$ l MeOH+ incubation à l'obscurité pendant 20 min à 30°C + lecture à 510 nm.

Les résultats ont été calculés a titre de A0,5 ( $\mu$ g/ml) correspondant a la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

### II.3. L'activité Anti-inflammatoire in-vitro

#### Principe de la réaction :

L'activité Anti-inflammatoire in-vitro est déterminée par la méthode de **Kandikattu K, (2013)** avec de légères modifications.

Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par les extraits.

#### ➤ Instrument utilisé :

Spectrophotomètre à cuve HELIOS EPSILON (Thermo scientifique).

#### ➤ Réactifs utilisés :

1- Tampon Tris-HCl 0.05M pH 6,6

2- BSA (bovine serum albumin)

3- Diclofénac de sodium (Standard)

#### ➤ Procédure :

- Préparation du Tris-HCl 0.05 M PH : 6,6

1,2144g est dissous dans 200 ml de l'eau bi distillée. Le PH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCl.

#### ➤ Préparation des extraits :

Différente concentration de l'extrait de plante sont préparée à partir d'une solution mère de 10 000 ppm.

#### ➤ Préparation du standard :

Différente concentration de Diclofénac sodique (forme injectable) sont préparée dans l'eau distillée à partir d'une solution mère de 16mg/ml

#### ➤ Préparation des blancs :

a- Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc extrait est préparé dans le quel 01ml d'extrait est ajouté à 1 ml de Tris-HCl (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

b- un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les extraits (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice)

#### ➤ Préparation de la solution BSA 0,2%:

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-HCl

#### ➤ Mode opératoire :

1 ml de chaque concentration d'extrait ou du standard + 1 ml de solution de BSA 0.2% préparé dans le Tris HCl PH : 6,6 incubation à 85 C° pendant 15 min.

Après refroidissement la turbidité est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve.

#### **II.4. Activité anti-inflammatoire in vivo**

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire se fait en provoquant un œdème par l'injection d'une solution de formol à 1% dans l'aponévrose de la plante de la patte. [132]

➤ **Matériel végétal:**

Extrait hydrométhanolique des feuilles d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L. préalablement préparé.

➤ **Matériel animal :**

Les rats utilisés dans l'étude étaient des rats Wistar albinos mâles et femelles pesant entre 100g et 350g.

Les animaux ont été logés dans des cages (50\*60\*53 cm<sup>3</sup>) et les adaptations ont été effectuées dans des conditions naturelles de température de 24°C, d'humidité de 50% et de photopériode dans l'animalerie de l'université Mentouri Constantine. La photopériode était de 12/24 heures.

Les rats ont été nourris ad libitum avec de la nourriture et de l'eau selon le "régime standard fourni par le Bureau National des Animaux d'Ain M'Lila (ONAB)".

Pour cette étude ont été choisis les rats femelles de souches Wistar dont le poids varie de 178 à 250 g.

➤ **Protocole expérimentale:**

Les rats mis à jeun pendant 17 heures, ils divisés en quatre groupes homogène de trois pour chaque.

Chaque groupe de rats a été soumis à des traitements différents selon le protocole suivant:

**Lot témoin :** Les rats de ce groupe ont reçu une administration par voie orale d'eau physiologique (NaCl à 0,9%) à raison de 1.5 ml, suivie de l'injection de 0,1 ml de formol à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite, 30 minutes après.

**Lot référence :** Les rats de ce groupe ont été traités avec un anti-inflammatoire (diclofénac) à une dose de 75 mg/kg par voie orale, suivi de l'injection de formol à 1%, également 30 minutes après.



**Figure 20:** injection du formol 1%.

**Lot essai 1 :** Les rats de ce groupe ont reçu par voie orale d'extraits *Origanum majorana* L. à une dose de 300 mg/kg pour chaque rat, puis 30 minutes après, une injection de formol à 1%.

**Lot essai 2 :** Les rats de ce groupe ont été traités par voie orale avec l'extrait méthanolique de *Saussurea lappa* L. à une dose de 300 mg/kg, suivi de l'injection de formol à 1%, également 30 minutes après.

Les volumes de la patte ont été relevés pendant chaque heure durant trois heures après l'injection de formol à l'aide d'un tube gradué contient un volume de l'eau coloré en vert indiqué par un papier millimètre en suivant la différence et la hauteur de volume apparu dans le tube à chaque fois.

L'efficacité anti-inflammatoire a été évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition de l'œdème (INH%) selon la formule suivante :

$$\text{INH}\% = \frac{(V_t - V_0)_{\text{temoin}} - (V_t - V_0)_{\text{traité}}}{(V_t - V_0)_{\text{temoin}}} \times 100$$

V<sub>0</sub> : représente le volume de la patte à t=0 (avant injectuion du formol)

V<sub>t</sub> : représente le volume de la patte à un temps t quelconque.



**Figure 21:** Mesure du volume de l'œdème.

## II.5. L'activité analgésique

### Writhing test (Induction de la douleur par l'acide acétique)

➤ **Matériel végétal**

Il s'agit d'EMOM et d'EMSL.

➤ **Matériel animal**

Les expériences ont été réalisées avec des rats mâles adultes pesant entre 110 g et 200g. Les rats ont été divisés au hasard en 04 lots homogènes de trois animaux chacun, les rats sont identifiés en scannant leur queue à l'aide d'un marqueur permanent.

➤ **Réactifs**

- ❖ Solution d'acide acétique à 1% dans l'eau physiologique.
- ❖ Extraits méthanoliques des feuilles d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L. (300mg/kg).
- ❖ Du paracétamol comme antalgique oral de référence à raison de (100mg/kg).
- ❖ L'eau physiologique (1ml/100g) comme substance témoins.

➤ **Principe**

La méthode utilisée était similaire à celle décrite par (Koster *et al.*, 1959) et modifiée par (Collier *et al.*, 1968), avec quelques modifications et testée.

L'effet analgésique de l'extrait a été évalué par le suivi du nombre de douleurs abdominales induites par l'injection intrapéritonéale d'acide acétique.

L'injection intrapéritonéale (IP) d'acide acétique provoque chez le rat un syndrome douloureux, provoquant des mouvements d'extension des membres postérieurs et des

contractions (spasmes) des muscles dorsogastriques, qui peuvent être atténués par des antispasmodiques.

### ➤ **Protocole expérimental**

Par conséquent, 04 groupes des rats (n=3) ont été créés, avec un nombre égal de mâles, mis à jeun pendant 18 heures et ayant un accès libre à l'eau. Au début de l'expérience.

Les rats de chaque groupe ont été pesés et marqués avant l'administration orale de chaque traitement.

**Au temps T-30 :** (Gavage)

Reçoivent par voie orale les suspensions suivantes :

**Lot de témoin négatif (I):** Eau physiologique (NaCl 0,9%) (1 ml/100 g).

**Lot de référence (II):** Paracétamol (100 mg/kg).

**Lot d'EMOM (III):** EMOM (300 mg/kg).

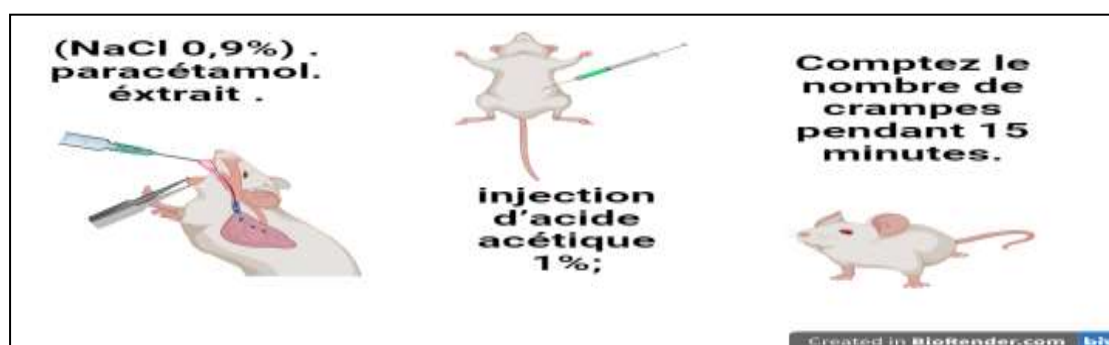
**Lot d'EMSL (IV):** EMSL (300 mg/kg).

**Au temps T0 :** (injection d'acide acétique 1%).

30 minutes après les différents traitements, l'acide acétique (1 %) a été injecté par voie intrapéritonéale (0,15 ml/20 g) dans les différents groupes de rats.

### **Post-injection d'acide acétique**

Après l'injection d'acide acétique, le syndrome douloureux a été caractérisé par des mouvements d'étirement des membres postérieurs et de torsion du groupe musculaire dorso-ventral. Ces torsions ont été enregistrées sur une période de 15 minutes [138].



**Figure 22 :** Les étapes d'activité analgésique.

**Pourcentage d'inhibition (%) =  $(1 - W_t / W_c) * 100$**

**Wc :** nombre moyen de distorsions des rats dans le lot de contrôle.

**Wt :** nombre moyen de distorsions des rats dans le lot de traitement.

## II.6. L'activité antipyrétique

L'effet antipyrétique des extraits testés a été examiné sur des rats albinos adulte à l'aide de la méthode de l'hyperpyrexie induite par la levure . [89]

➤ **Matériel végétal:**

Extrait hydro-méthanolique des feuilles d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L. préalablement préparé.

➤ **Matériel animal :**

Cette expérience a été menée en utilisant des rats males de souche Wistar dont le poids entre 192 à 344 g, ont été obtenus auprès de l'animalerie de l'université des frères Mentouri Constantine1.

Les rats ont été acclimatés aux conditions de laboratoire standard .

➤ **Protocole expérimentale:**

Les rats ont été mis à jeun pendant 17 heures et avant l'expérimentation .les rats répartis en quatre groupes homogènes de trois individus chacun.

Les rats ont été reçu par voie sous cutanée suspension aqueuse de levure de bière de 20% et après 24heures chaque groupe de rats a été exposé à des traitements distincts conformément au protocole suivant:



**Figure 23:** Injection de la levure sous-cutanée .

**Lot témoin:** les animaux de ce groupe reçu par voie orale à l'aide d'une seringue de gavage l'eau physiologique à dose de 10ml/kg.

**Lot référence:** les animaux de ce groupe reçu un antipyrétique (Paracétamol) de 150mg/kg de poids corporel .

**Lot d'essai 1:** : les animaux de ce groupe reçu par voie orale 300mg/kg d'extrait méthanolique *Origanum majorana* L. .

**Lot d'essai 2 :** les animaux de ce groupe reçu par voie orale 300mg/kg d'extraits *Saussurea lappa* L.

La prise de la température doit être réalisée toutes les heures pendant cinq heures après le gavage , en utilisant un thermomètre numérique inséré par voie rectale.

Le pourcentage de diminution de la pyrexie à été calculé selon :

$$R(\%) = \frac{(T_p - T_n)}{(T_p - T_i)} \times 100$$

**T<sub>p</sub>** : température après induction de la pyrexie

**T<sub>n</sub>** : température après x temps

**T<sub>i</sub>** : température initiale



**Figure 24 :** Mesure de la température rectale .

### II.7. L'activité anti ulcère

#### Induction de l'ulcère gastrique par le mélange HCl/Ethanol

➤ **Matériel végétal**

Il s'agit d'EMOM et d'EMSL.

➤ **Matériel animal**

Les expériences ont été réalisées avec des rats mâles adultes de la souche Wistar pesant entre 180 g et 280 g. Les rats ont été divisés au hasard en 05 lots homogènes de trois animaux chacun.

➤ **Réactifs**

- ❖ Solution de HCl à 3% dans l'eau physiologique.
- ❖ Solution d'éthanol à 60% dans l'eau physiologique.
- ❖ Extraits méthanoliques des feuilles d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L. (300mg/kg).
- ❖ D'Oméprazole comme antalgique oral de référence à raison de 30mg/kg.
- ❖ L'eau physiologique (1ml/100g) comme substance témoins.
- ❖ Solution de formol à 10 % dans l'eau physiologique pour conserver les estomacs.



❖ Solution de chloroforme pour comme anesthésie.

➤ **Principe**

Les effets gastro-protecteurs des principes actifs de *Saussurea lappa* L. et *Origanum majorana* L. ont été testés sur des rats en utilisant le protocole de (Brzozowski et al.,1998) avec de légères modifications [29].

Des lésions gastriques ont été induites avec un mélange d'acide chlorhydrique et d'éthanol, un agent de formation d'ulcères.

➤ **Protocole expérimental**

L'agent ulcérant (HCl/Ethanol) est un mélange d'acide chlorhydrique ou HCl (3 %) et d'éthanol (60 %) (50:50/ v:v), selon le modèle de (Robert et al.,1979) [125].

Par conséquent, 05 groupes des rats (n=3) ont été créés, avec un nombre égal de femelles et de mâles, mis à jeun pendant 24 heures et ayant un accès libre à l'eau. Au début de l'expérience.

Les rats de chaque groupe ont été pesés et marqués avant que chaque traitement ne soit administré par voie intra-gastrique.

**Au temps T-05 :** (gavage)

Les suspensions suivantes sont administrées par voie orale en lots de 04 :

**Lot de témoin positif (I):** L'eau physiologique (NaCl 0,9 %) (1 ml/100 g).

**Lot de témoin négatif (II):** L'eau physiologique (NaCl 0,9 %) (1 ml/100 g).

**Lot de référence (III):** Oméprazole (30 mg/kg).

**Lot d'EMOM (IV):** EMOM (300 mg/kg).

**Lot d'EMSL (V):** EMSL (300 mg/kg).

**Au temps T0 :**

01 heure plus tard, une solution de HCl/éthanol (10 ml/kg) a été administrée par voie orale (par gavage) aux rats de chaque groupe, à l'exception du groupe de contrôle positif.

**Au temps T01 :**

Les rats ont été sacrifiés 01 heure après l'administration de la solution HCl/éthanol après dislocation cervicale sous anesthésie au chloroforme.

L'estomac a été retiré après dissection abdominale médiane, ouvert le long de la grande courbure, lavé avec du sérum physiologique et enfin étalé sur un verre de montre pour faciliter l'observation des lésions formées. Les photographies ont été prises à l'aide d'un appareil photo à un grossissement de 0,8x. Pour les études histologiques, les estomacs ont été scellés et conservés dans du formol à 10 %.

### L'utilisation du programme Image J

Les estomacs photographiés, ont été analysés ultérieurement par le programme ImageJ (<http://www.winportal.fr/imagej>).

À l'aide de ce programme, la surface des lésions gastriques et la surface totale de chaque estomac ont été mesurées. Les résultats obtenus ont permis de calculer deux paramètres différents [158] :

Le pourcentage d'ulcération a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'ulcération} = (\text{surface totales des lésions} / \text{surface totale de l'estomac}) * 100$$

Le pourcentage de protection ou d'inhibition de l'ulcère pour chaque groupe traité a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = ((\text{USc} - \text{USt}) / \text{USc}) * 100$$

**USc:** Surface ulcérée du contrôle.

**USt:** Surface ulcérée du test.

### III.8. Activité antidiabétique

#### ➤ **Matériel animal:**

Les rats utilisés dans notre étude sont adultes males de souches Wistar dont le poids entre 180 à 250 g, ont été obtenus auprès de l'animalerie de l'université des frères Mentouri.

Les rats ont été maintenus dans des conditions de laboratoire standard.

#### ➤ **Matériel végétal:**

Extrait hydro-méthanolique des feuilles d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L. préalablement préparé.

#### ➤ **Protocole expérimentale**

Les rats mis à jeun pendant 12 heures, ils divisés en quatre groupes homogène de trois pour chaque.

L'expérience a été réalisé sur 12 rats répartis en trois lots, ces trois lots ont reçu des traitements différent par voie orale.

**Lot 1(témoin):** traité avec l'eau physiologique 0.9% à dose de 250mg/kg.

**Lot 2(référence):** traité avec la Diaglinide ,un médicament antidiabétique qui stimule la production d'insuline par le pancréas, permettant ainsi de baisser la glycémie à une dose de 0.5mg/kg.

**Lot3(expérimentale1):** traité avec l'extrait de *Origanum majorana* L. de dose de 300mg/kg.

**Lot 3(expérimentale2):** traité avec l'extrait de *Saussurea lappa* L. de dose de 300mg/kg.

## Matériel et méthodes

On a mesuré le taux de glycémie 30 min avant l'administration des différents traitements, ensuite, une solution de glucose est administrée par voie orale aux rats à une dose de 4g/kg. puis on a mesuré la glycémie des rats après 30,60,120,180 min après l'administration de la solution de glucose.

Le glucose sanguin a été évalué en utilisant un glucomètre avec des bandelettes adaptées (Bionime) après avoir prélevé du sang de la veine principale de la queue obtenu par une coupe de 2mm.



**Figure 25:** coupe au niveau de la queue du rat et mesure du glucose sanguin.

### **III.9. Etude de la toxicité**

#### ➤ **Matériel animal:**

Les rats utilisés dans notre étude sont adultes mâles de souches Wistar dont le poids entre 170 à 200 g, ont été obtenus auprès de l'animalerie de l'université des frères Mentouri.

Les rats ont été maintenus dans des conditions de laboratoire standard.

#### ➤ **Matériel végétal:**

Extrait hydro-méthanolique des feuilles d'*Origanum majorana* L. et des racines de *Saussurea lappa* L. préalablement préparé.

#### ➤ **Protocole expérimentale**

L'étude de la toxicité orale aiguë a été réalisée en suivant les lignes directrices de l'OCDE [106], [53]. Chaque extrait a été testé sur trois rats. Après administration d'une dose de 2 g/kg de la substance testée, les animaux ont été observés pendant 24 heures pour évaluer leur comportement et leur mortalité. [88]. Après 24h, on fait dissection sur les rats.

La moitié des décès chez les animaux est attribuable à une concentration toxique de certaines substances. On peut remarquer des signes tels que des altérations cutanées et de la fourrure, des anomalies oculaires, des problèmes de muqueuses, des tremblements, des convulsions, une augmentation de la salivation, des épisodes de diarrhée, une léthargie, des

## Matériel et méthodes

périodes de sommeil excessif jusqu'au coma, ainsi que des dysfonctionnements des systèmes nerveux respiratoire, circulatoire, autonome et central. Ces symptômes affectent également l'activité musculaire et le comportement de l'animal.



**Figure 26** : Rat reçoit de l'extrait par gavage .

# **Résultats et discussion**

**Résultats et discussion**



**I/Screening phytochimique des métabolites secondaires**

Les tests phytochimiques effectués sur des extraits EMOM et EMSL des espèces d'*Origanum majorana* L. et de *Saussurea lappa* L. en utilisant des réactifs de caractérisation qualitative. Ces tests phytochimiques sont basées sur des réactions de coloration et de précipitation.

**I.1. Criblage des composés phénoliques**

**I.1.1. Détection des quinones libres**



**Tableau 09** : Résultats de criblage des quinones libres dans les espèces *O.majorana* et *S.lappa*.

Extraits	Observation de coloration	Résultats
<i>Origanum majorana</i> L.		Test positive (+) Observation de la couleur orange .
<i>Saussurea lappa</i> L.		Test positive (+) Observation de la couleur jaune.

Les résultats obtenus montrent que les deux espèces sont modérément riches en quinones.

**I.1.2. Criblage des anthraquinones**



**Tableau 10 :** Résultats de criblage des anthraquinones dans les espèces *O.majorana* et *S.lappa*.

Extraits	Observation de coloration	Résultats
<i>Origanum majorana</i> L.		Test positive (+) Observation de la couleur rouge.
<i>Saussurea lappa</i> L.		Test négative (-) Aucune changement de couleur.

Les tests phytochimiques ont montré que *O.majorana* riche en anthraquinones par contre *S.lappa* ne contient pas d'anthraquinones.

**I.1.3. Criblage des flavonoïdes**

**Tableau 11 :** Résultats de criblage des flavonoïdes dans les espèces *O.majorana* et *S.lappa*.



Extraits	Observation de coloration	Résultats
<i>Origanum majorana</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur rouge .
<i>Saussurea lappa</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur rouge .

La détection de flavonoïdes indique que ces plantes sont riches en flavonoïdes.

**I.1.4. Criblage des tannins**

**Tableau 12 :** Résultats de criblage des tannins dans les espèces

*O.majorana* et *S.lappa*.



Extraits	Observation de coloration	Résultats
<i>Origanum majorana</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur vert-noir
<i>Saussurea lappa</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur bleu-noir

La présence des tanins galliques chez l'espèce *Saussurea lappa* L., et des tanins catéchiques chez l'espèce *Origanum majorana* L.

**I.2. Criblage des Stérols, stéroïdes et triterpènes**



**Tableau 13 :** Résultats de criblage des triterpènes dans les espèces

*O.majorana* et *S.lappa*.

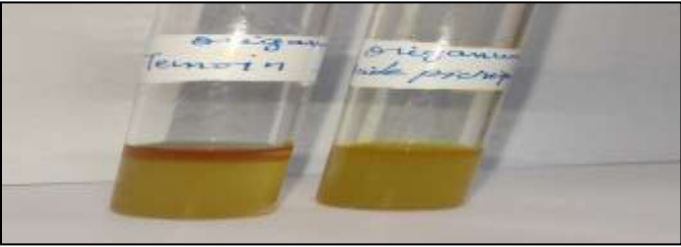
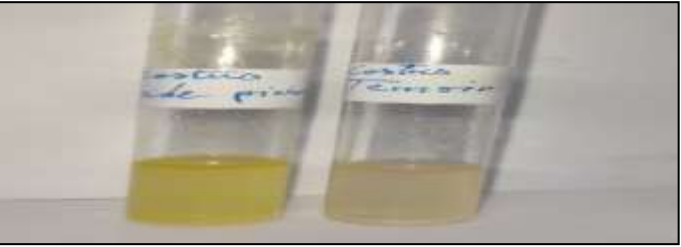
Extraits	Observation de coloration	Résultats
<i>Origanum majorana</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur rouge
<i>Saussurea lappa</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur rouge violet



**Tableau 14 :** Résultats de criblage des stérols dans les espèces  
*O.majorana* et *S.lappa*.

Extraits	Observation de coloration	Résultats
<i>Origanum majorana</i> L.		Test positive (+) L'apparition de l'anneau rouge
<i>Saussurea lappa</i> L.		Test positive (+) L'apparition de l'anneau rouge

**Tableau 15 :** Résultats de criblage des stéroïdes lactoniques dans les espèces  
*O.majorana* et *S.lappa*.

Extraits	Observation de coloration	Résultats
<i>Origanum majorana</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur orange
<i>Saussurea lappa</i> L.		Test positive (+) L'apparition de la couleur orange

Les tests phytochimiques montrent que les deux espèces sont riches en stérols, en triterpènes, et en stéroïdes lactoniques.

### I.3. Détection des coumarines

Criblage des coumarines, sur des plaques CCM f254 avec de (l'acétate d'éthyle: toluène) (34:14) comme phase mobile et la visualisation UV ont confirmé la présence de taches bleues, indiquant la présence de coumarine dans les deux plantes.

### I.4. Détection des saponosides



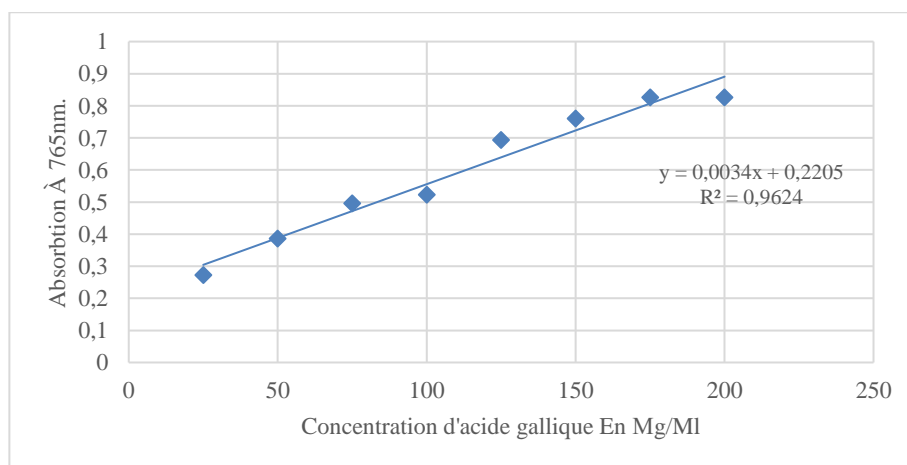
**Figure 27** : Résultats de détection des saponosides dans les espèces *O.majorana* et *S.lappa*.

Après calcul de l'indice de mousse, nous avons constaté l'absence de saponosides dans les deux espèces.

### I.5. Dosage des composés phénolique totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [135] selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al, 2010 [99].

L'acide gallique est utilisé comme un standards, les résultats obtenue est présentée dans une courbe d'étalonnage dont l'équation :  $y = 0,0034x + 0,1044$



**Figure 28** : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

**Tableau 16 :** Teneurs en polyphénols totaux d'EMOM et EMSL.

Extrait	Polyphénols (µg QE/ml)
EMOM	206,35± 13,63
EMSL	174,09± 7,79

Values were expressed as means ± SD (n=3).

Total phenolic compounds were expressed as µg gallique acid equivalent/ml (µg QE/ml).

Les quantités des polyphénols totaux dans les deux extraits se distinguent par leurs niveaux élevés avec des différences notables dans les deux extraits.

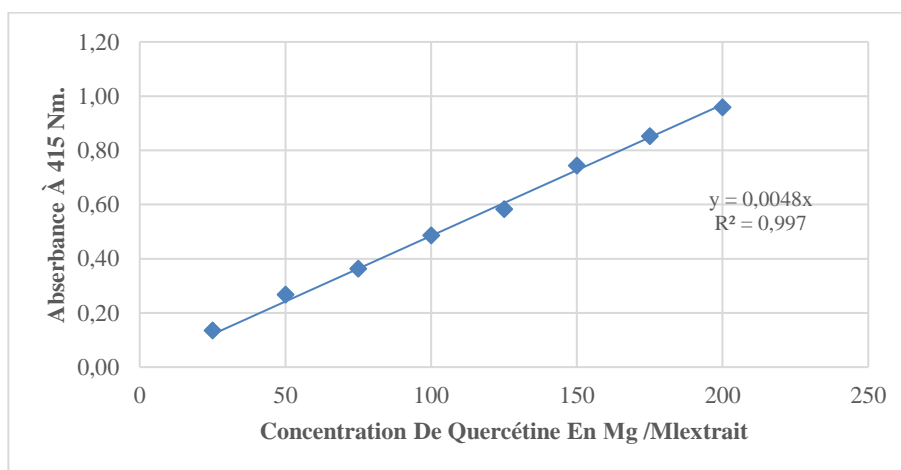
L'EMOM (206,35 µg QE/ml) est plus riche en composés phénoliques, que l'EMSL (174,09 µg QE/ml).

Comparativement aux travaux menu par Madoui en 2018 [91] sur l'espèce *Origanum vulgare* et *Saussurea costus* (Asteraceae et Lamiaceae) a trouvé que ces espèces sont moins riches en polyphénols totaux par rapport à nos plantes.

### I.6. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe entre AlCl<sub>3</sub> et les flavonoïdes, ayant une absorbance maximale à 430 nm.

La Quercétine a été utilisé comme un standard, la courbe d'étalonnage ayant l'équation : (Y=0,048X) avec R<sup>2</sup>= 0,997.



**Figure 29 :** Courbe d'étalonnage de Quercétine.

**Tableau 17 :** Teneurs en flavonoïdes totaux d'EMOM et EMSL.

Extrait	Flavonoïdes (µg QE/ml)
EMOM	78,40± 12,22
EMSL	66,18± 1,17

Values were expressed as means ± SD (n=3).

## Résultats et discussion

Flavonoids contents were expressed as  $\mu\text{g}$  Quercétine equivalent /ml ( $\mu\text{g}$  QE/ml). La concentration des flavonoïdes contenus dans les extraits des plantes est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la Quercétine comme standard.



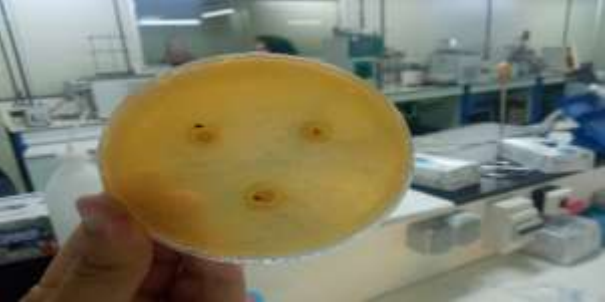
L'extrait EMOM (78,40  $\mu\text{g}$  QE/ml) est plus riche en des flavonoïdes, que l'extrait EMSL (66,18  $\mu\text{g}$  QE/ml).

Madoui en 2018 a trouvé que l'espèce *Origanum vulgare* et *Saussurea costus* des familles d'Asteraceae et Lamiaceae présente une faible teneur en flavonoïdes [91].

## II. Propriétés biologique des extraits

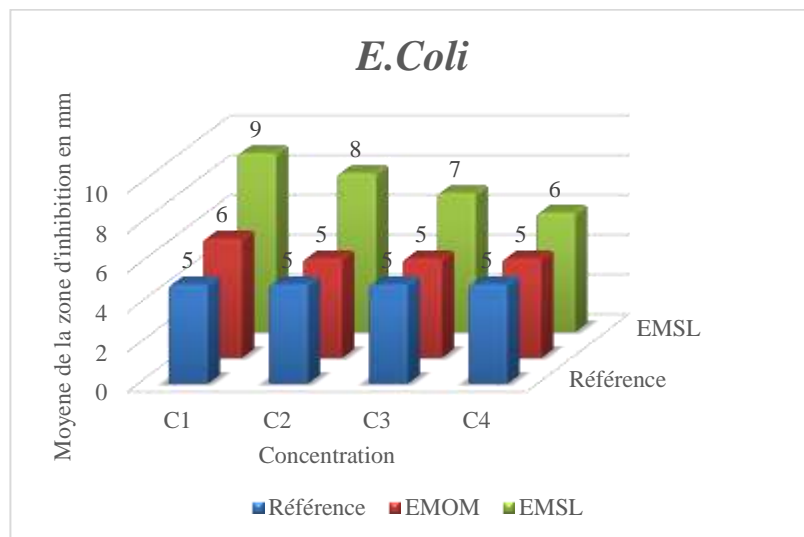
### II.1. L'activité antibactérienne

**Tableau 18** : Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h (*Escherichia coli*).

Traitements	Résultats
Référence AUG3	
EMOM	
EMSL	


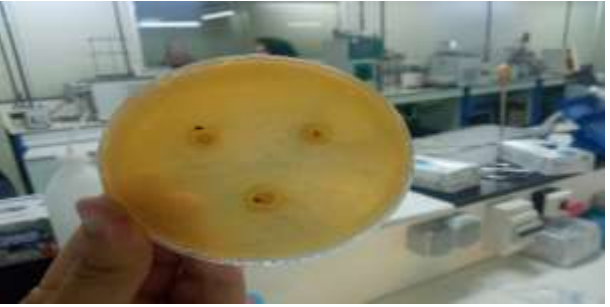

**Tableau 19 :** Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h  
(*Escherichia coli*).

<i>Escherichia coli</i>				
Référence AUG3				
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)			5	
Sensibilité			-	
EMOM				
Concentration	C1	C2	C3	C4
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	6	5	5	5
Sensibilité	+	-	-	-
EMSL				
Concentration	C1	C2	C3	C4
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	9	8	7	6
Sensibilité	+	+	+	+



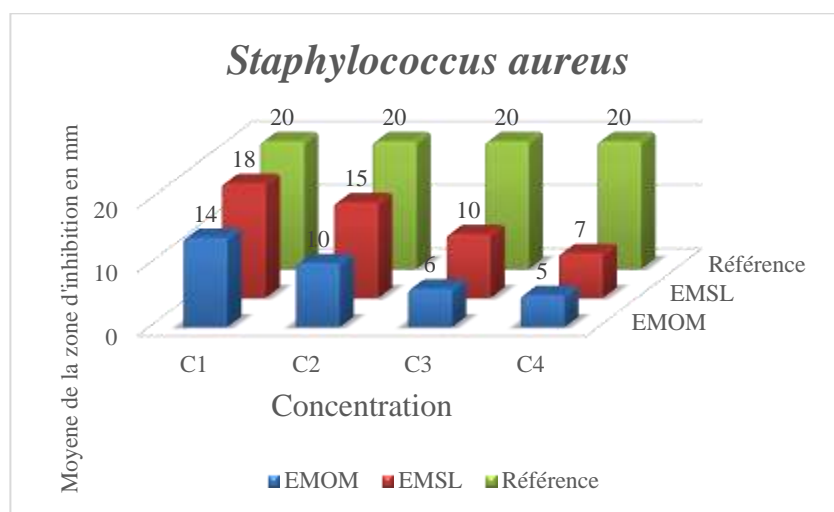
**Figure 30:** La moyenne de la zone d'inhibition sous l'effet de différentes concentrations EMOM, EMSL et Référence (*Escherichia Coli*).

**Tableau 20 :** Diamètres de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h  
(*Staphylococcus aureus*).

Traitement	Résultats
Référence AUG3	
EMOM	
EMSL	

**Tableau 21** : Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h  
(*Staphylococcus aureus*).

<i>Staphylococcus aureus</i>				
Référence AUG3				
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	20			
Sensibilité	+++			
EMOM				
Concentration	C1	C2	C3	C4
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	14	10	6	5
Sensibilité	++	+	+	-
EMSL				
Concentration	C1	C2	C3	C4
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm)	18	15	10	7
Sensibilité	+++	++	++	+



**Figure 31** : La moyenne de la zone d'inhibition sous l'effet de différentes concentrations EMOM, EMSL et Référence (*Staphylococcus aureus*).

Nous observons que les deux extraits exercent une activité antibactérienne inhibitrice contre les deux souches bactériennes testés en dépit de leur morphologie et de leur Gram. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

En comparant les résultats obtenus, il est clair que l'EMSL présente une activité bactéricide contre les deux souches, et la très sensible est *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition maximal de 18 mm (gram positif) à des concentrations en C1 et un diamètre d'inhibition minimal de 9 mm (gram négatif) pour les souches d'*E.coli*.

D'autre part, l'EMOM ne montre une activité bactéricide que pour *Staphylococcus aureus* dont le diamètre d'inhibition maximal de c1 est de 14 mm (gram positif), tandis que la souche *E. coli* est moins sensible à l'EMOM et le diamètre d'inhibition maximal est de 06 mm (gram négatif).

De plus, l'EMSL a un effet inhibiteur plus important et plus efficace sur la croissance bactérienne que l'EMOM.

*Staphylococcus aureus* est extrêmement sensible à l'EMSL (+ + +) par rapport à l'EMOM (++).

*E. coli* est sensible à l'EMSL (+), mais n'est pas sensible à l'EMOM.

### **II.2. Activité antioxydante**

Cette étude était d'évaluer l'activité antioxydante des EM de deux plantes : *Origanum majorana* L. (origan,majoraline) et *Saussurea lappa* L. . Les antioxydants jouent un rôle crucial dans la neutralisation des radicaux libres, prévenant ainsi les dommages oxydatifs associés à de nombreuses maladies chroniques. Pour mesurer cette activité, plusieurs méthodes ont été utilisées, notamment le DPPH, l'ABTS, le FRAP et la phénanthroline,.

#### **1-DPPH assay**

La capacité de réduction du radical libre DPPH en DPPH-H se mesure par la diminution de l'absorbance à 517 nm, provoquée par l'antioxydant. Ce processus est observable par un changement de couleur allant du violet au jaune. Dans ce test, les résultats ont été comparés aux normes Trolox et acide ascorbique.

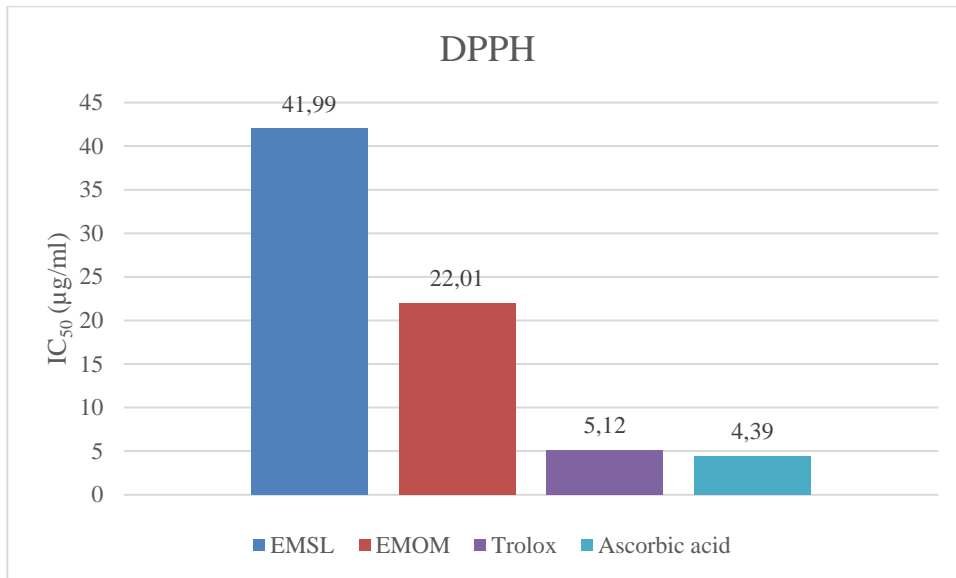




**Figure 32 :** Microplaque des tests d'activités du radical DPPH de EMSL et EMOM.

**Tableau 22 :** inhibition du radical DPPH par les extraits de S.l et O.m.

% Inhibition in DPPH assay								
Extari ts et standa rds	12.5	25	50	100	200	400	800	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
EMSL	15,15± 6,02	28,90± 4,71	59,75± 1,71	80,91± 7,38	82,60± 7,05	84,03± 5,31	79,88± 4,67	41,99± 1,77
EMO M	31,27± 4,07	55,80± 1,27	84,82± 1,63	84,47± 2,61	84,87± 0,74	81,51± 2,61	75,43± 1,21	22,01± 0,65
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Trolox	6.42±0. 91	13.33± 2.14	30.19± 0.67	61.48± 2.98	87.16± 0.28	88.46± 0.11	87.72± 0.47	5.12±0. 21
Ascorb ic acid	0.31±1. 02	12.90± 0.28	29.69± 0.39	76.67± 0.37	84.94± 0.84	87.78± 0.49	86.36± 0.21	4.39±0. 01



**Figure 33** : les valeurs de l'IC<sub>50</sub> de test DPPH

Les résultats de l'activité antioxydante mesurée par la méthode DPPH révèlent que l'origanum a une IC<sub>50</sub> de 22,01 µg/ml, ce qui est presque deux fois plus puissant que le costus avec une IC<sub>50</sub> de 41,99 µg/ml. Les antioxydants standards, Trolox et l'acide ascorbique, montrent des IC<sub>50</sub> significativement plus faibles, de 5,12 µg/ml et 4,39 µg/ml respectivement, soulignant leur efficacité supérieure.

Les deux extraits (SI et Om) montrent une augmentation de leur activité antioxydante avec l'augmentation de la concentration, atteignant une inhibition maximale à une concentration de 200 µg/ml.

À des concentrations élevées, l'Origanum et le *Saussurea* montrent une activité antioxydante proche de celle de Trolox et de l'acide ascorbique, bien que leurs IC<sub>50</sub> soient significativement plus élevés.

## 2-ABTS assay

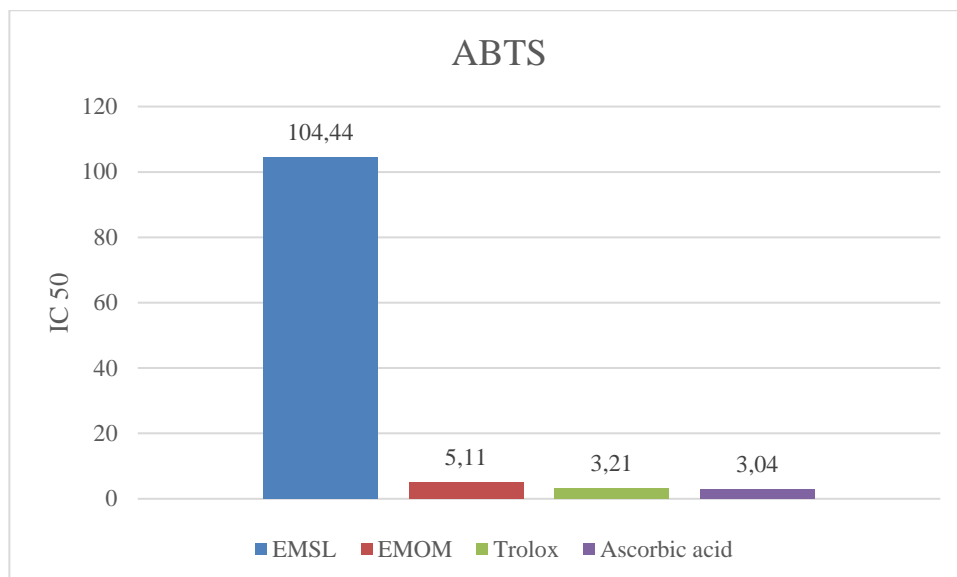
L'antioxydant provoque la réduction du cation radical ABTS en ABTSH, ce qui entraîne la disparition de la couleur bleu turquoise de la solution. Ce changement est surveillé par la mesure de l'absorbance à 734 nm, permettant de déterminer la concentration inhibitrice des divers extraits, comparée à celle des standards Trolox et Acide ascorbique.



**Figure 34 :** Microplaque pour les tests d'activité de piégeage du cation radical ABTS<sup>+</sup> de l'EMSL et de l'EMOM .

**Tableau 23 :** Pouvoir d'inhibition du ABTS avec les valeurs de l'IC<sub>50</sub> de test ABTS

Extari ts et standa rds	12.5	25	50	100	200	400	800	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
EMSL	NA	NA	39,76± 3,32	48,41± 1,08	86,64± 5,52	92,23± 0,31	92,80± 0,47	104,44± 3,58
EMO M	53,48± 2,18	67,88± 5,24	82,49± 1,96	90,37± 0,56	90,68± 0,87	90,68± 0,78	91,14± 0,71	5,11±3,3 7
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Trolo x	14.74± 0.37	26.15± 0.65	51.70± 1.51	89.72± 0.67	92.89± 0.19	92.89± 0.19	91.84± 1.19	3.21±0.0 6
Ascor bic acid	13.43± 0.82	28.76± 0.67	52.94± 0.94	93.21± 0.11	93.08± 0.19	92.40± 0.88	92.96± 0.11	3.04±0.0 5



**Figure 35:** les valeurs de l'IC50 de test ABTS.

L'analyse de l'activité antioxydante par la méthode ABTS montre que l'origan a une IC50 de 5,11 µg/ml, proche de celle de Trolox (3,21 µg/ml) et de l'acide ascorbique (3,04 µg/ml). Le costus, en revanche, a une IC50 beaucoup plus élevée de 104,44 µg/ml, indiquant une activité antioxydante relativement faible par rapport à l'origanum et aux standard.

L'origanum montre une activité antioxydante dès les plus faibles concentrations, avec une inhibition de  $53,48 \pm 2,18\%$  à 12,5 µg/ml.

L'activité antioxydante augmente avec la concentration, atteignant  $91,14 \pm 0,71\%$  à 800 µg/ml.

Chez Saussurea, les concentrations de 12,5 µg/ml et 25 µg/ml n'ont pas montré d'activité significative (NA).

À partir de 50 µg/ml, l'activité antioxydante commence à être observable, avec une inhibition de  $39,76 \pm 3,32 \%$ . L'activité antioxydante continue d'augmenter avec la concentration, atteignant une inhibition maximale de  $92,80 \pm 0,47 \%$  à 800 µg/ml.

Les standards Trolox et Acide ascorbique :

À une concentration de 0,78125 µg/ml, Trolox montre déjà une inhibition de  $14,74 \pm 0,37 \%$ . L'activité antioxydante continue d'augmenter avec la concentration, atteignant une inhibition de  $91,84 \pm 1,19 \%$  à 50 µg/ml.

À une concentration de 0,78125 µg/ml, l'acide ascorbique montre une inhibition de  $13,43 \pm 0,82 \%$ . L'activité antioxydante augmente avec la concentration, atteignant une inhibition de  $92,96 \pm 0,11 \%$  à 50 µg/ml.

Donc EMOM et EMSL montrent une activité antioxydante notable, avec une efficacité particulièrement élevée pour l'Om comparée aux standards.

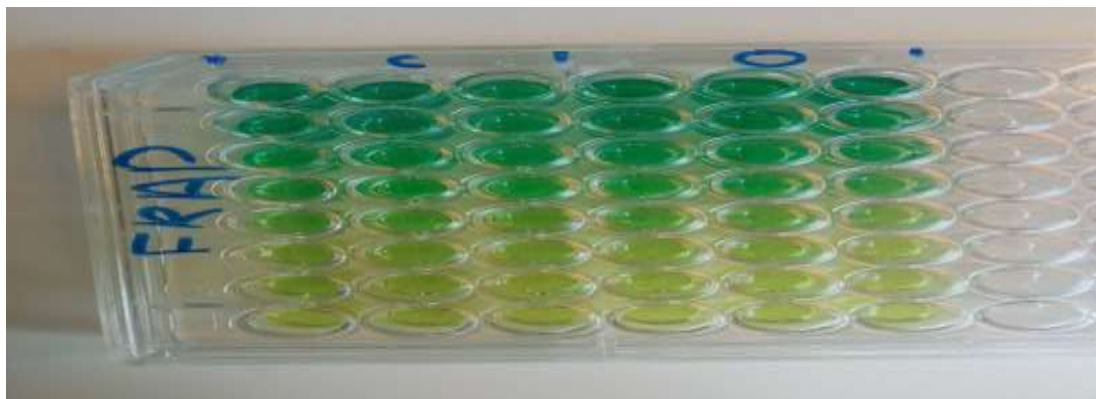
L'étude de (Smith et *al.*2023) [136]. a utilisé des méthodes standardisées telles que le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) pour évaluer l'activité antioxydante de l'EMOM. Il a été soumis à une analyse approfondie pour évaluer son activité antioxydante. Cette plante, également connue sous le nom de marjolaine, est reconnue pour ses propriétés médicinales et aromatiques. Les résultats ont été publiés et ont montré une activité antioxydante significative, suggérant son potentiel en tant qu'agent protecteur contre les radicaux libres.

En parallèle, une autre équipe de chercheurs dirigée par (Johnson et *al.* 2022) [66] a étudié les propriétés antioxydantes de l'EMSL. Leur étude a porté sur la capacité de cet extrait à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène, un indicateur clé de son activité antioxydante. Leurs résultats ont également confirmé une activité antioxydante de l'EMSL, ce qui correspond aux données que nous avons obtenues dans notre étude.

En conclusion, les études montrent souvent que l'OM possède une forte activité antioxydante, en raison de sa teneur élevée en composés phénoliques et flavonoïdes. Une étude similaire a rapporté des IC50 pour le DPPH et l'ABTS comparables à nos résultats, confirmant que l'OM a une forte capacité antioxydante et SL ont une activité antioxydante. Les valeurs d'IC50 pour le DPPH et l'ABTS dans notre étude sont en ligne avec les résultats précédemment publiés, qui montrent une activité antioxydante inférieure à celle de l'OM et des standards courants.

### **3-Reducing power (FRAP)**

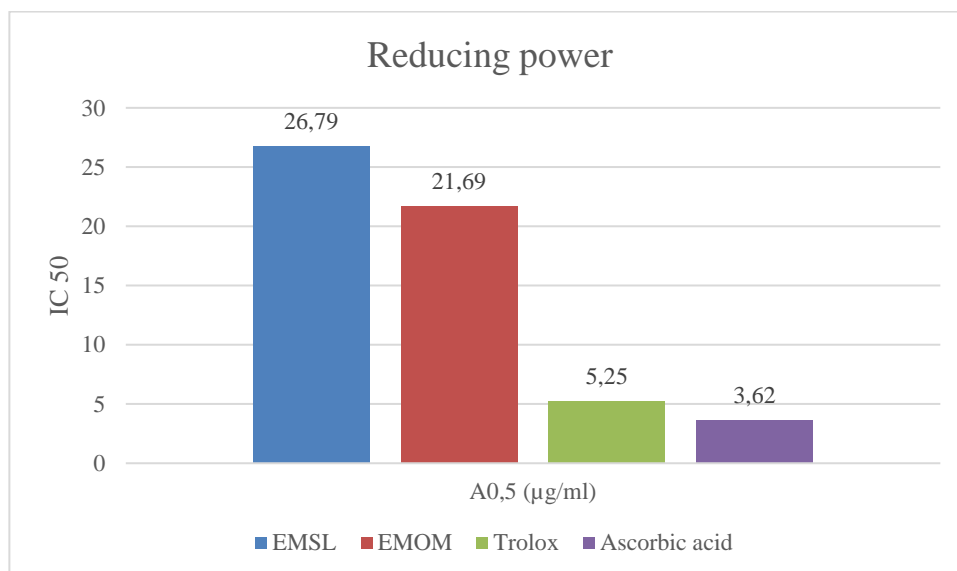
FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique) Le test se base sur la capacité de réduction du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$ , qui est jaune, en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Cette réduction est provoquée par l'antioxydant, le ferrocyanure de potassium, qui réagit ensuite avec le chlorure ferrique pour former un complexe fer ferreux de couleur bleu-vert, qui absorbe à 700 nm. Les résultats de ce test ont été comparés à des normes comprenant de l'acide ascorbique et de l' $\alpha$ -Tocophérol.



**Figure 36:** Microplaques des tests d'activités du pouvoir réducteur (FRAP) de l'EMSL et de l'EMOM.

**Tableau 24:** les absorbances du pouvoir réducteur des EMSL et EMOM.

Inhibition in Reducing power assay								
Extraits et Standards	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	A <sub>0,5</sub> (µg/ml)
EMSL	0,18±0,02	0,21±0,03	0,33±0,03	0,49±0,00	0,69±0,04	1,14±0,25	1,23±0,30	26,79±0,37
EMOM	0,15±0,01	0,21±0,04	0,35±0,04	0,55±0,00	0,79±0,04	1,17±0,03	1,41±0,23	21,69±0,59
	0.0976 µg	0.195 µg	0.390 µg	0.781 µg	1.562 µg	3.125 µg	6.25 µg	A <sub>0,5</sub> (µg/ml)
Trolox	0.07±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.13±0.00	0.19±0.02	0.28±0.05	0.60±0.04	5.25±0.20
Ascorbic acid	0.07±0.00	0.09±0.01	0.12±0.01	0.17±0.01	0.25±0.02	0.47±0.03	0.79±0.09	3.62±0.29



**Figure 37:** les valeurs de l'A<sub>0,5</sub> de test FRAP.

Les résultats pour l'activité antioxydante mesurée par la méthode FRAP montrent que toutes les concentrations testées (de 3,125 µg/ml à 200 µg/ml), les valeurs d'absorbance montrent que les deux extraits ont une activité antioxydante significative.

La valeur A<sub>0,5</sub> pour le Saussurea est de 11,02 µg/ml, tandis que celle de l'Origanum est de 14,62 µg/ml. Une valeur A<sub>0,5</sub> plus élevée indique que l'Origanum nécessite une concentration légèrement plus élevée que le Saussurea pour atteindre une activité antioxydante de 50 %, suggérant que le Costus pourrait avoir une activité antioxydante légèrement meilleure dans cette étude spécifique. Trolox et l'acide ascorbique ont des valeurs A<sub>0,5</sub> beaucoup plus

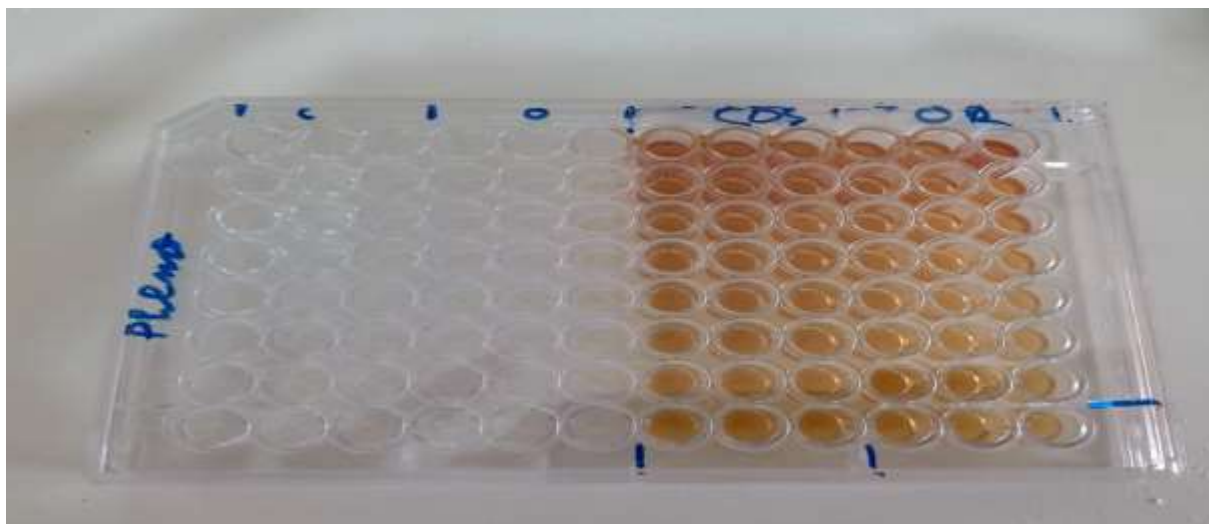
## Résultats et discussion

faibles (5,21  $\mu\text{g/ml}$  pour Trolox et 3,08  $\mu\text{g/ml}$  pour l'acide ascorbique), ce qui indique une capacité antioxydante plus forte comparée aux extraits de plantes.

À des concentrations similaires, les absorbances pour Trolox et l'acide ascorbique sont plus basses, ce qui montre une efficacité antioxydante plus élevée pour les antioxydants standards. Une absorbance plus élevée à une concentration donnée indique une plus grande activité antioxydante. Par exemple, à 200  $\mu\text{g/ml}$ , les valeurs d'absorbance pour l'Origanum (2,57 $\pm$ 0,84) et le Costus (2,51 $\pm$ 0,32) montrent une activité antioxydante significative.

### 4-Phénantroline assay

Cette activité implique une opération simple qui repose sur la capacité de convertir le fer ferrique ( $\text{Fe}^3$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^2$ ), facilitée par l'antioxydant. Le fer ferreux ( $\text{Fe}^2$ ) réagit ensuite avec la phénanthroline pour créer un complexe stable appelé férroïne =  $\text{Fe}^{+2}$  - phénanthroline, affichant une couleur rouge orangée et absorbant à 510 nm. Les résultats ont été comparés aux normes Trolox et Acide ascorbique.



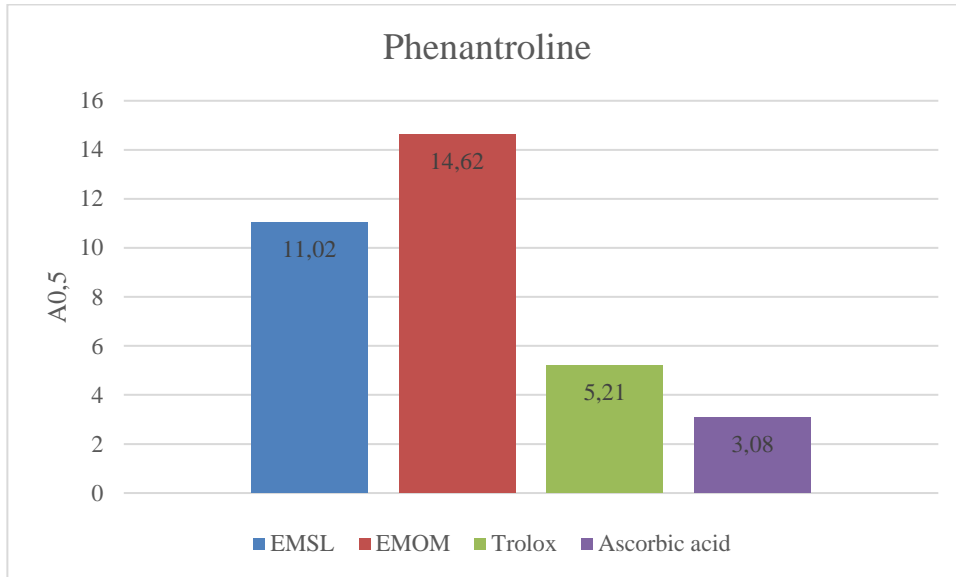
**Figure 38 :** Microplaques des tests d'activités de réduction de fer ferrique par la formation de complexe  $\text{Fe}^{+2}$ - phénanthroline de l'EMSL et EMOM .

**Tableau 25 :** Les absorbances du pouvoir réducteur du fer-phénanthroline mesurées par EMSL et EMOM.

Extraits et Standards	Absorbances							$A_{0,5}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
EMSL	0,35 $\pm$ 0,01	0,40 $\pm$ 0,00	0,55 $\pm$ 0,06	0,68 $\pm$ 0,06	0,96 $\pm$ 0,27	1,77 $\pm$ 0,03	2,51 $\pm$ 0,32	11,02 $\pm$ 1,70
EMOM	0,34 $\pm$ 0,01	0,38 $\pm$ 0,00	0,48 $\pm$ 0,01	0,64 $\pm$ 0,04	0,96 $\pm$ 0,05	1,35 $\pm$ 0,25	2,57 $\pm$ 0,84	14,62 $\pm$ 0,74

## Résultats et discussion

	0.0976 μg	0.195μ g	0.390 μg	0.781 μg	1.562 μg	3.125 μg	6.25 μg	A <sub>0,5</sub> (μg/ml)
Trolox	0.25±0. 01	0.24±0. 01	0.26±0. 01	0.26±0. 00	0.32±0. 01	0.38±0. 01	0.56±0. 02	5.21±0.2 7
Ascorbic acid	0.26±0. 01	0.29±0. 00	0.29±0. 02	0.31±0. 01	0.37±0. 01	0.50±0. 00	0.80±0. 00	3.08±0.0 2



**Figure 39 :** les valeurs de l'A<sub>0,5</sub> de test phenantroline.

Pour l'activité antioxydante mesurée par la méthode à la phénanthroline, le costus montre une meilleure performance que l'origanum avec des valeurs A<sub>0,5</sub> respectives de 11,02 μg/ml et 14,62 μg/ml. Encore une fois, Trolox et l'acide ascorbique affichent des capacités antioxydantes plus élevées, avec des valeurs de 5,21 μg/ml et 3,08 μg/ml. Cela suggère que, bien que le costus soit plus efficace que l'origanum dans cette méthode.

Le Saussurea et l'Origanum ont montré des activités antioxydantes, mesurées par la réduction du Phenantroline, à toutes les concentrations testées. Cependant, l'Origanum semble avoir une activité légèrement plus élevée que le Saussurea à des concentrations plus élevées, comme le montrent les valeurs plus élevées pour l'Origanum à 100 et 200 μg/ml par rapport au Saussurea à ces mêmes concentrations.

Comparativement, le Trolox et l'acide ascorbique ont également montré des activités antioxydantes, avec le Trolox ayant des valeurs plus élevées que l'acide ascorbique dans la plupart des concentrations.

Il semble y avoir une tendance à une augmentation de l'activité antioxydante avec l'augmentation de la concentration pour toutes les substances testées, bien que cette tendance puisse varier en fonction de la substance spécifique.



les résultats indiquent que l'Origanum et le Saussurea ont des activités antioxydantes intéressantes, avec l'Origanum montrant des performances légèrement supérieures dans cette étude particulière.

### **II.3. L'activité anti-inflammatoire in vitro**

L'activité anti-inflammatoire in vitro a été déterminée par une légère modification de la méthode de **Kandikattu K, (2013)**, dont le principe consiste à l'inhibition de la dénaturation induite par la chaleur (72C°) de la BSA par l'extrait.



**Figure 40:** Microplaque des tests d'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits méthanoliques et du diclofénac de référence.



**Figure 41:** Résultats d'activité anti-inflammatoire in vitro des EMOM et EMSL après lecture de la microplaque.



**Figure 42:** Résultats d'activité anti-inflammatoire in vitro de référence diclofénac après lecture de la microplaque.

Les tests anti-inflammatoires in vitro ont montré que les extraits d'*Origanum majorana* L. et de *Saussurea lappa* L. n'avaient pas d'effet significatif dans cette activité comparé au référence.(dégradation des couleurs).

Pour l'*Origanum majorana* L. malgré son étude fréquente en raison de ses propriétés pharmacologiques, notamment son potentiel anti-inflammatoire, des recherches comme celles de Lachenmeier et *al.*(2017) [82] . ont révélé une activité anti-inflammatoire absente ou peu marquée in vitro, même si ses propriétés antimicrobiennes sont bien établies. De même, une

méta-analyse par Johnson et al. (2019) [67] a montré une variabilité des résultats concernant l'effet anti-inflammatoire de *l'Origanum majorana* L., souvent liée aux conditions expérimentales et aux méthodes d'extraction.

Concernant *Saussurea lappa* L., une plante utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques diverses, y compris ses effets anti-inflammatoires potentiels, des études telles que celle de Wu et al. (2015) [153], ont également trouvé une activité anti-inflammatoire faible ou nulle in vitro avec les EM de ses racines. Ces résultats sont conformes avec d'autres recherches signalant une activité modeste ou absente dans les extraits de bardane en termes d'inflammation.

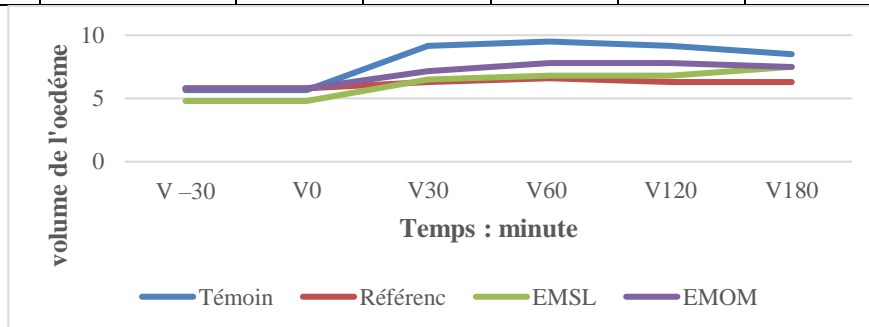
En conclusion, l'absence d'activité anti-inflammatoire in vitro dans ces EM peut être due à divers facteurs, notamment la variabilité des composés actifs dans les extraits, les techniques d'extraction utilisées et la complexité des voies inflammatoires ciblées

**II.4. Activité anti inflammatoire in vivo**

L'évaluation in vivo de l'activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des racines de la plante *Saussurea lappa* L. et des feuilles d'*Origanum majorana* L. a été réalisée sur des rats Wistar, à une dose de 300 mg/kg administrée par voie orale. Les expériences ont été menées en utilisant le modèle de l'œdème de la patte des rats induit par une solution de formol à 1%. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux du diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien, ainsi qu'à ceux du témoin (eau physiologique).

**Tableau 26 :** Evolution de l'œdème traité par l'eau physiologique, Diclofénac et EM des plantes étudiées précédemment.

Groupes	Traitements	V -30	V0	V30	V60	V120	V180
I	Témoin	5,66	5,66	9,16	9,5	9,16	8,5
II	Référence	5,8	5,8	6,3	6,6	6,3	6,3
III	EMSL	4,8	4,8	6,5	6,8	6,8	7,5
IIII	EMOM	5,8	5,8	7,16	7,8	7,8	7,5



**Figure 43:** Courbe de l'évolution de l'œdème traité par l'eau physiologique, Diclofénac , EMSL et EMOM

Les résultats de notre étude impliquent l'évaluation des effets anti-inflammatoires des feuilles d'*Origanum majorana* L (marjolaine) et des extraits de racine de *Saussurea lappa* L. sur l'œdème de la patte induit par formol chez les rats. Les mesures ont été prises à six moments différents,

**Témoin :** Le groupe témoin montre une réponse inflammatoire typique avec un œdème de la patte commençant à 5,66, culminant à 9,5 et se réduisant légèrement à 8,5. Cela représente la progression naturelle de l'inflammation sans intervention.

**Référence :** Ce groupe, traité avec un médicament anti-inflammatoire (diclofénac) standard, commence à 5,8, atteint un pic de 6,6 et se stabilise à 6,3. L'œdème nettement plus faible par rapport au témoin indique l'efficacité du médicament dans le contrôle de l'inflammation.

**S.I :** Le groupe traité au EMSL commence avec un œdème initial plus faible (4,8) que le témoin, suggérant une activité anti-inflammatoire précoce. L'œdème de pointe atteint 6,8 et augmente légèrement à 7,5. Cela indique que le *Saussurea* a un effet anti-inflammatoire modéré et constant, bien qu'il montre une légère augmentation vers la fin.

**O.m :** Le groupe traité à O.m commence avec un œdème de 5,8, similaire au groupe de référence, mais atteint un pic plus élevé à 7,8, se terminant à 7,5. Cela suggère que, bien que l'*Origanum* ait un effet anti-inflammatoire, il est moins puissant que le médicament de référence et le *Saussurea*

*Origanum Majorana* L. (Marjolaine) : Les recherches sur l'*Origanum Majorana* L. soulignent ses propriétés anti-inflammatoires significatives :

- Étude de Raafat et *al.* (2013) [120] a trouvé que la marjolaine exhibait des activités anti-inflammatoires pas mal en raison de sa haute teneur en composés phénoliques, . Ces composés aident à réduire l'inflammation en neutralisant les radicaux libres et en inhibant les médiateurs inflammatoires .

- Farhoudi et *al.* (2021) [120] ont rapporté que l'huile essentielle d'*Origanum majorana* L. réduisait significativement l'œdème de la patte chez les rats, similaire à vos observations, indiquant une action anti-inflammatoire bien que moins puissante que certains médicaments standard .

*Saussurea lappa* L. a été largement étudié pour ses propriétés anti-inflammatoires. Les principales conclusions incluent:

- Recherche d'Ahmed et *al.* (2020) [05] a démontré que l'EMSL réduisait significativement l'inflammation dans un modèle d'œdème de la patte . L'étude a attribué l'effet anti-inflammatoire à des composés comme le costunolide et la déhydrocostus lactone, qui inhibent les cytokines pro-inflammatoires .

## Résultats et discussion

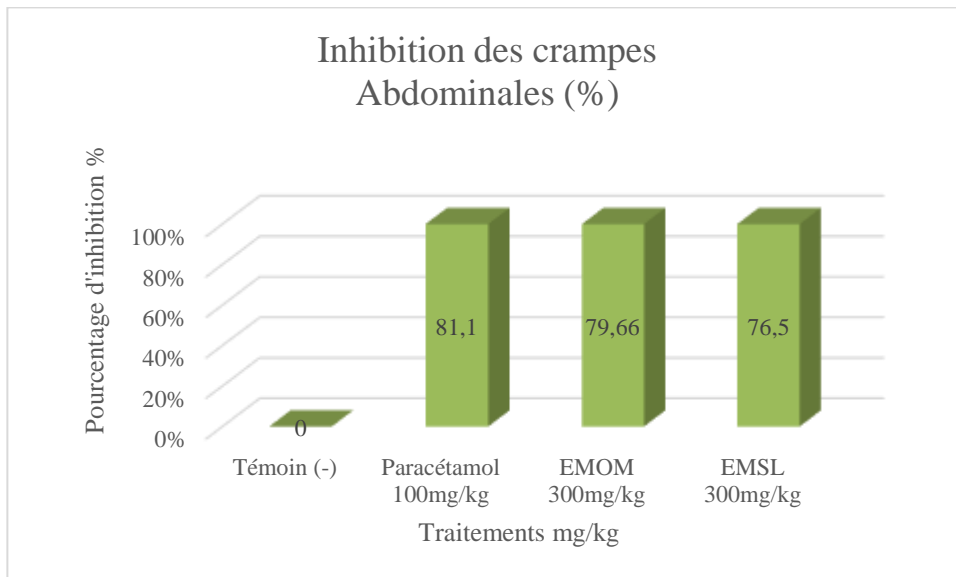
- Sahu et *al.* (2018) [128] ont confirmé que l'EMSL possède des effets anti-inflammatoires, réduisant l'œdème et la douleur dans divers modèles *in vivo*, soutenant nos conclusions selon lesquelles le *Saussurea* montre un effet anti-inflammatoire constant.

Les résultats de notre étude sont en accord avec ceux de ces chercheurs, affirmant les effets anti-inflammatoires de l'*Origanum majorana* L. et du *Saussurea lappa* L. Le *Costus* a montré une performance légèrement meilleure pour réduire l'œdème par rapport à la majoraline, bien que les deux soient moins efficaces que le médicament de référence.

### II.5. L'activité analgésique

**Tableau 27 :** Effet analgésique de paracétamol, d'EMOM et d'EMSL sur le nombre de crampes abdominale induites par l'acide acétique chez les rats.

Groupes	Traitements	Nombre de crampes abdominale	% Inhibition
(I) Témoin négatif	NaCl 01ml/100g	95 ±3	–
(II) Référence	Paracétamol 100mg/kg	18 ±2	81.10%
(III) EMOM	EMOM 300mg/kg	19.33 ±1.52	79.66%
(IV) EMSL	EMSL 300mg/kg	22.33 ±1	76.50%



**Figure 44 :** Le pourcentage d'inhibition des crampes abdominales (%).

Dans les conditions expérimentales de notre étude, des injections d'une dose de 0,15 ml/20g d'acide acétique à 1% par voie IP provoque des symptômes douloureux.

Le mécanisme du développement de la douleur provient de lésions tissulaires impliquées dans la libération accrue d'un certain nombre de médiateurs chimiques, tels que l'histamine, les prostaglandines et la sérotonine dans l'intrapéritonéal qui vont stimuler les récepteurs nociceptifs situés au niveau péritonéal [77].

Selon les résultats, l'acide acétique s'est avéré induire en moyenne 95 convulsions, qui ont été comptées après 15 minutes dans le lot témoin.

L'EMOM et l'EMSL à une concentration de 300 mg/kg et de paracétamol 100 mg/kg réduisent le nombre de crampes abdominales suivantes 19, 22 et 18.

Les pourcentages d'inhibition étaient : 79,66% pour l'EMOM et 76,50% pour l'EMSL, et le paracétamol inhibe la douleur à 81,10%.

Les résultats précédents montrent que :

- ✓ Les deux espèces ont un effet analgésique remarquable.
- ✓ Les extraits sont très efficaces par rapport au paracétamol.
- ✓ L'EMOM est plus efficace par rapport au EMSL.

Nous avons déjà confirmé la présence de nombreux composants avec une activité biologique prononcée dans nos extraits, et ces composants peuvent avoir la capacité d'inhiber la libération de médiateurs chimiques (tels que l'histamine) qui sont responsables de l'apparition de symptômes douloureux.

### **Les résultats précédents sont accordés avec les études suivantes :**

Soro & al., (2009) ont trouvé que :

Les pourcentages d'inhibition sont respectivement: 80,8% pour la morphine à 5mg/kg et 61,1% pour l'extrait de famille d'Asteraceae à 100mg/kg [138]. Cela montre que l'effet de notre extrait est comparable à celui de la morphine.

Ouedraogo & al., (2012) ont montré que :

Pour les feuilles de l'extrait de Lamiaceae à concentrations de 100 à 600 mg/kg, les pourcentages d'inhibition étaient de 47,86 à 68%.

Pour les racines à même concentrations, les pourcentages d'inhibition étaient de 47% à 73,30%.

Les pourcentages d'inhibition sont proportionnels avec la concentration de l'extrait. Pour le médicament à 100mg/kg, l'effet inhibiteur était à 47,36% [109].

Ezeja & al., (2011) ont montré que :

Pour l'extrait DGE de la plante *Dialium guineense*(Wild) à concentration de 250 et

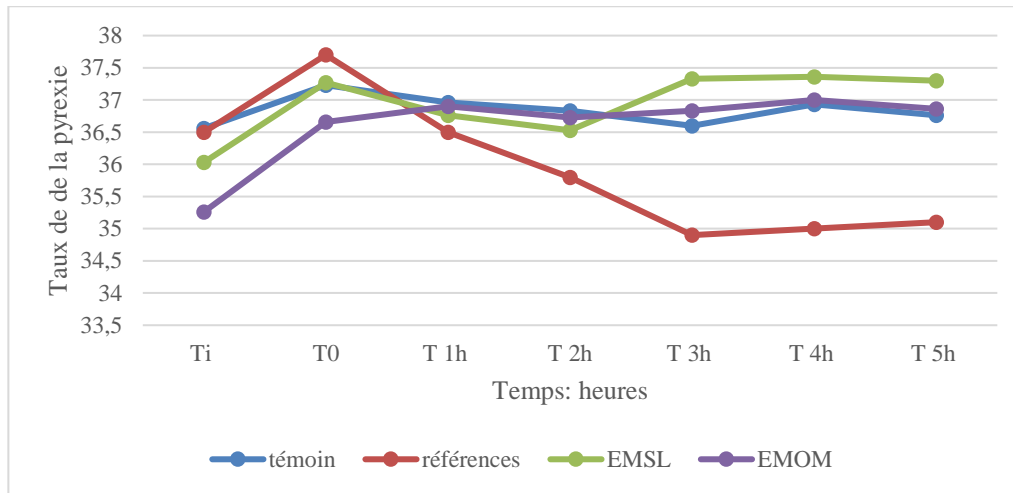
500 mg/kg, les pourcentages d'inhibition sont respectivement 8% et 59% et 48% pour l'aspirine comme molécule de référence a concentration de 400 mg/kg [50].

**II.6. L'activité antipyrétique**

L'étude in vivo a examiné l'effet antipyrétique des extraits méthanoliques des racines de *Saussurea lappa* L. et des feuilles d'*Origanum majorana* L. de dose de 300mg/kg sur des rats. Pour cela, un test de pyrexie induite par une injection sous-cutanée de levure de bière à 20 % a été réalisé, en comparant l'efficacité de ces extraits à celle du paracétamol, un médicament antipyrétique de dose 150mg/kg , et à une solution de chlorure de sodium (NaCl 0,9 %) à raison de 10 ml/kg, utilisée comme témoin. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau(27).

**Tableau 28 : résultats des taux de pyrexie**

<b>Grou pes</b>	<b>Traitem ents</b>	<b>Ti</b>	<b>T0</b>	<b>T1h</b>	<b>T 2h</b>	<b>T 3h</b>	<b>T4h</b>	<b>T 5h</b>
<b>I</b>	Témoin	36.56± 1,01	37.23± 1,15	36.96± 0,90	36.83± 0,60	36.6±0, 65	36.93± 0,80	36.76± 0,66
<b>II</b>	Paracéta mol 150mg/k g	36,5±0, 32	37,7±0, 75	36,5±0, 55	35,8±0, 59	34,9±0, 82	35±1,1 1	35,1±0, 66
<b>III</b>	EMSL 300mg/k g	36,03± 0,42	37,27± 0,75	37,76± 0,65	36,53± 1,17	37,33± 0,31	37,36± 0,15	37,3±0, 52
<b>IIII</b>	EMOM 300mg/k g	35,26± 0,42	36,66± 0,50	36,9± 0,30	36,73± 0,29	36,83± 0,64	37±0,9 2	36,86± 0,85



**Figure 45 :** Graphique représentatif du taux de la pyrexie

-Les témoins traités par l'eau physiologique montrent une légère augmentation de la température à T0 ( $37,23 \pm 1,15$ ) par rapport à Ti ( $36,56 \pm 1,01$ ), ce qui peut être attribué à la manipulation des animaux ou au stress expérimental. Ensuite, la température diminue progressivement et reste relativement stable autour de  $36,83 \pm 0,60$  à  $36,93 \pm 0,80$ , indiquant l'absence d'effet antipyrétique significatif. Cela pourrait refléter une réponse naturelle du corps sans traitement spécifique.

- Le groupe de référence, qui utilise probablement un antipyrétique comme le paracétamol, montre une baisse plus marquée de la température après T0, passant de  $37,7 \pm 0,75$  à une température plus basse de  $34,9 \pm 0,82$  à T3h, avant de se stabiliser autour de  $35,1 \pm 0,66$  à T5h. Cela indique une efficacité notable du traitement de référence pour réduire la fièvre.

- Le groupe traité par l'EMSL, une hausse de température similaire à celle des autres groupes est observée à T0 ( $37,27 \pm 0,75$ ). Toutefois, les températures restent relativement élevées et augmentent même légèrement au fil du temps, atteignant  $37,36 \pm 0,15$  à T4. Ceci suggère que l'EMSP présente une activité antipyrétique limitée.


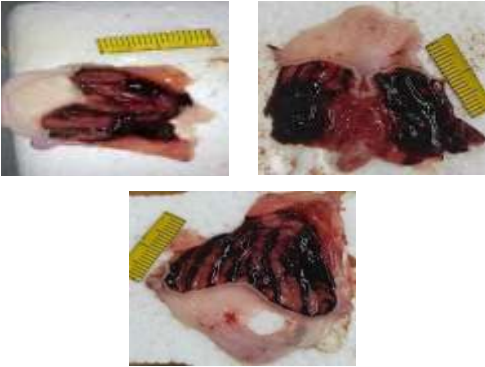


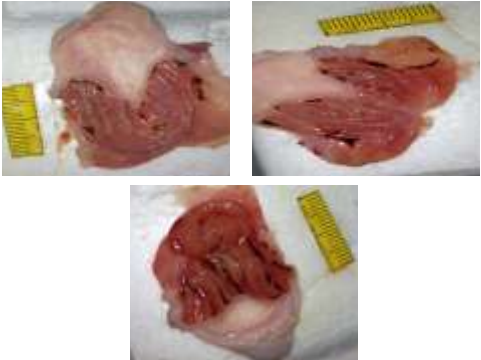
-L'EMOM montre une augmentation de la température à T0 ( $36,66 \pm 0,50$ ), suivie d'une diminution graduelle jusqu'à T3 ( $36,83 \pm 0,64$ ). Cependant, la température augmente légèrement par la suite, atteignant  $37 \pm 0,92$  à T4. Cela indique une activité antipyrétique.

-Les résultats de notre étude indiquent que EMOM possède une activité antipyrétique, bien que modeste, tandis que l'EMSL montre peu d'effet antipyrétique.



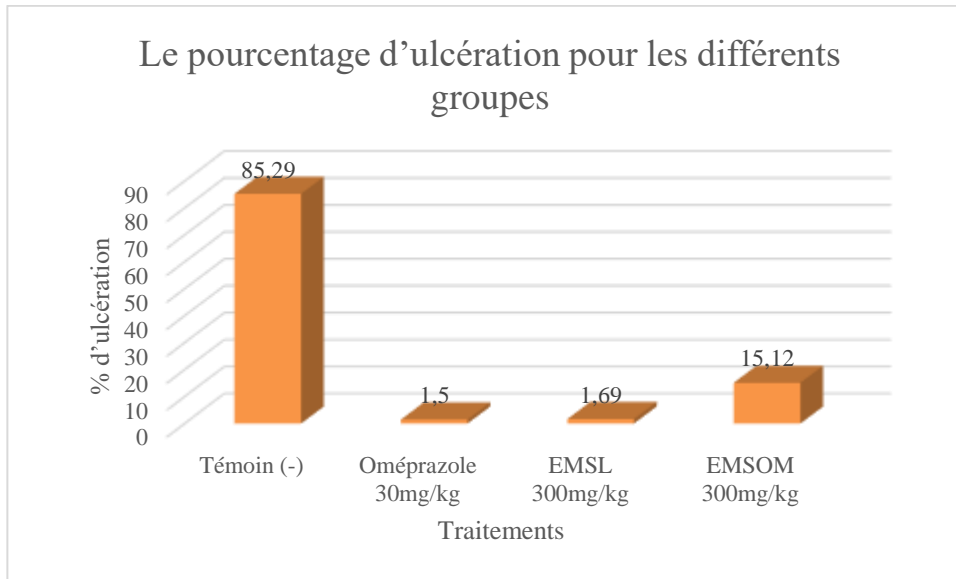
II.7. L'activité anti-ulcère

Tableau 29 : Résultats d'activité anti ulcère.

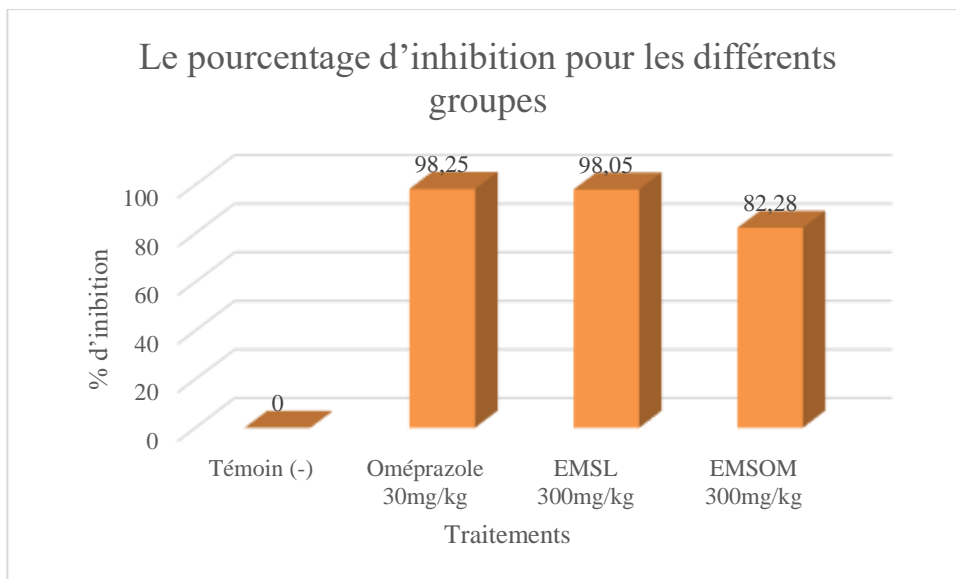
Groupes	Traitements	Photos des estomacs
(I) Contrôle positif	NaCl 01ml/100g	
(II) Contrôle négatif	NaCl 01ml/100g	
(III) Référence	Oméprazole 30 mg/kg	
(IV) EMSL	EMSL 300mg/kg	
(V) EMOM	EMOM 300mg/kg	

**Tableau 30 :** Le pourcentage d'ulcération et d'inhibition pour les différents groupes.

Groupes	Traitements	% d'ulcération	% Inhibition
(II) Contrôle négatif	NaCl 01ml/100g	85.29±0.34	–
(III) Référence	Oméprazole 30 mg/kg	01.50±1.11	98.25
(IV) EMSL	EMSL 300mg/kg	01.69±1.37	98.05
(V) EMOM	EMOM 300mg/kg	15.12±3.88	82.28



**Figure 46 :** Le pourcentage d'ulcération pour les différents groupes.



**Figure 47 :** Le pourcentage d'inhibition pour les différents groupes.

L'éthanol seul provoque des ulcères en réduisant le flux sanguin dans la muqueuse gastrique [126]. D'autres paramètres sont impliqués dans l'origine des ulcères tels que la réduction des taux de glutathion et de prostaglandines endogènes provoquant chaque changement dans le stress oxydatif et l'intégrité des muqueuses [68].

D'autres études ont montré que l'éthanol induit une diffusion accrue de l'acide, la libération d'histamine, l'écoulement du sodium et du potassium, l'afflux de calcium, ainsi que la production de radicaux libres et de leucotriène, qui induisent tous l'apparition de lésions gastriques [14].

Nos résultats montrent que l'EMSL et l'EMOM à 300 mg/kg présente les caractéristiques suivantes :

- Réduction significative du taux d'ulcères (1,69% et 15,12%).
- L'inhibition respective (98,05% et 82,28%) est cohérente avec l'étude il a été obtenu par Antonio et al. (2004).

Cela indique que les extraits étudiés émettent un effet protecteur de la muqueuse gastrique sur l'agent ulcératif HCl / éthanol.

L'activité obtenue par l'EMSL et l'EMOM à 300 mg/kg est statistiquement comparable à l'activité de l'étalon, L'oméprazole a un taux d'inhibition de 98,25%. Cela suggère que les extraits ont un effet inhibiteur sur le mécanisme par lequel l'oméprazole agit, au contact des pompes à protons, sur un milieu acide, formant une liaison sulfhydryle avec le composé actif, la H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase, et la convertissant ainsi en sulfamides pouvant induire son inactivation [40].

En effet, les travaux de (Reyes-Chilpa *et al.*, 2006) [122] et ceux de (Baggio *et al.*, 2007) [13] ont démontré que les flavonoïdes peuvent réduire l'hydrolyse de l'ATP par les pompes à protons gastriques, ce qui entraîne une diminution de la sécrétion d'acide.

Ces résultats suggèrent que :

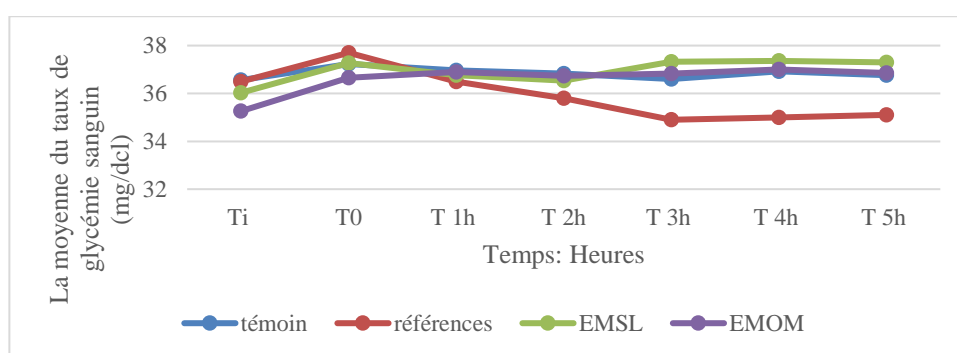
- ✓ L'EMSL et EMOM ont un effet gastro protecteur en raison de leur capacité à réduire la formation de lésions et à induire des mécanismes protecteurs de la muqueuse gastrique l'EMSL est plus efficace que l'EMOM.

### **II.8. L'activité antidiabétique**

L'étude in vivo a examiné l'effet antidiabétique des extraits méthanoliques des racines de la plante *Saussurea lappa* L. et des feuilles d'*Origanum majorana* L. sur des rats. Pour ce faire, un test de tolérance au glucose par voie orale a été réalisé, en comparant l'efficacité de ces extraits à celle d'un médicament antidiabétique (Diaglinide) comme témoin positif et à une solution de chlorure de sodium (NaCl 0,9%) à 250 mg utilisée comme témoin négatif . Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau.

**Tableau 31 :** Résultats du taux de glycémie.

Groupes	Traitements	T - 60min	T - 30min	T 0	30min	60min	120min	180min
<b>I</b>	Témoin	60	63,33	63,33	102,66	221,66	147	71
<b>II</b>	Référence	64	66,6	68,66	90	31	50,33	Low
<b>III</b>	EMSL	70,33	79,66	83,33	113	97	79	60,33
<b>IIII</b>	EMOM	72	81,33	131,66	131	105	85,33	67,33



**Figure 48:** Graphique représentatif du taux de glycémie des rats traités avec différents groupes (eau physiologique, contrôle positif, extraits de feuilles d'*Origanum majorana* L. et racines de *Saussurea lappa* L.

**Témoin Négatif :** Les valeurs de la glycémie augmentent significativement jusqu'à 60 minutes (221,66 mg/dL), puis diminuent graduellement. Ceci reflète l'absence d'effet antidiabétique, comme attendu.

**Référence :** Les valeurs de la glycémie sont bien contrôlées et montrent une diminution significative à 60 minutes (31 mg/dL), démontrant un fort effet antidiabétique.

**Lot (*Saussurea lappa* L.) :** Les valeurs de la glycémie augmentent légèrement après l'administration (jusqu'à 30 minutes), puis diminuent graduellement, atteignant 60,33 mg/dL à 180 minutes. Donc les composés présents dans *Saussurea lappa* L. pourraient agir sur les mécanismes de régulation du glucose, bien que leur efficacité soit moindre que celle du traitement de référence. Cela indique une activité antidiabétique modérée.

**Lot (*Origanum majorana* L.) :** Les valeurs de la glycémie montrent une augmentation significative à T0 (131,66 mg/dL) et restent élevées jusqu'à 30 minutes (131 mg/dL), puis diminuent progressivement. À 180 minutes, la glycémie est de 67,33 mg/dL. Cela suggère une activité antidiabétique, bien que moins prononcée que celle de la référence.

*Origanum majorana* L a été étudié pour ses effets antidiabétiques dans diverses études. Une étude par Choudhary et al. (2018) [36] a démontré une réduction significative de la glycémie chez des rats diabétiques traités avec un extrait d'*Origanum majorana* L. corroborant les résultats obtenus dans cette étude où une diminution progressive de la glycémie a été observée après 60 minutes .

*Saussurea lappa* L. est connu pour ses propriétés antidiabétiques. Une étude par Zafar et al. (2016) [156] a montré une réduction notable de la glycémie chez des rats diabétiques traités avec un extrait de *Saussurea lappa* L., ce qui est cohérent avec les résultats de cette étude, où une réduction modérée de la glycémie a été observée à 180 minutes .

### **II.9. Etude de la toxicité**

Les résultats du test de toxicité montrent qu'une dose de **2 g/kg** d'extrait de *Saussurea lappa* L, administrée par voie orale avec trois répétitions d'essais, n'a entraîné aucun décès et n'a provoqué aucun trouble notable au cours des deux premières heures d'observation, jusqu'à 24 heures. Conformément aux directives de l'OCDE [106], l'extrait d'*Origanum majorana* L., administré par voie orale avec trois répétitions d'essais, a entraîné un seul décès, mais les autres rats n'ont montré aucune toxicité notable au niveau de la peau, des yeux ou des muqueuses, et aucun signe de tremblements n'a été observé.

**Tableau 32:** Différents comportements des rats dans le test de toxicité à dose 2g/kg d'EMSL

Les rats Rat3	Rat1			Rat2					
	1H	4H	24H	1H	4H	24H	1H	4H	24H
<b>Respiration</b>	Pré s e n t	Pré s e n t	Pré s e n t	Pré s e n t	Pré s e n t	Pré s e n t	Pré s e n t	Pré s e n t	Pré s e n t
<b>Trembleme nts</b>	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t
<b>Douleurs</b>	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t
<b>Convulsions</b>	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t
<b>Changemen t de la peau</b>	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t
<b>Coma</b>	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t	Abse n t
<b>Vivant/mort</b>	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t

Après avoir administré par voie orale une dose de 2 g/kg d'EMSL aux rats, aucune toxicité significative au niveau de la peau, des yeux ou des muqueuses n'a été observée après 24 heures, et aucun signe de tremblements n'a été noté. Une dissection réalisée 24 heures plus

tard a révélé que leurs organes étaient intacts. Ces observations suggèrent que cet extrait est potentiellement sans danger à cette dose.



**Figure49:** L' aspect des organes des rats ayant reçu de l'EMSL.

Une étude sur l'EMSL a montré une LD50 élevée, indiquant une faible toxicité aiguë chez les rats . [149] Dans une autre étude, les extraits de Costus administrés à des rats à des doses similaires n'ont pas montré de toxicité notable, ce qui est en accord avec nos résultats [79].

**Tableau 33:** Différents comportements des rats dans le test de toxicité à dose 2g/kg d'EMOM

Les rats Rat3	Rat1			Rat2					
Observation	1H	4H	24H	1H	4H	24H	1H	4H	24H
<b>Respiration</b>	Pré nt	Abse nt	Abse nt	Pré nt	Pré nt	Pré nt	Pré nt	Pré nt	Pré nt
<b>Trembleme nts</b>	Prese nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt
<b>Douleurs</b>	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt
<b>convulsions</b>	Prese nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt
<b>Changemen t de la peau</b>	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt
<b>Coma</b>	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt	Abse nt
<b>Vivant/mort</b>	Vivan t	Mort	Mort	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t	Vivan t

## Résultats et discussion

Après avoir reçu une dose de 2 g/kg d'EMOM par voie orale, les rats n'ont montré aucune toxicité notable au niveau de la peau, des yeux ou des muqueuses après 24 heures. Aucun signe de tremblements n'a été observé, mais un seul décès a été enregistré dans le groupe. Lors de la dissection des rats, nous avons observé des signes d'hémorragie dans leurs organes.

La mort d'un rat et les signes d'hémorragie observés indiquent une possible toxicité à cette dose pour cet EMOM contient des composés bioactifs, qui peuvent présenter des effets toxiques à des doses élevées.

Une étude sur la toxicité aiguë des extraits d'*Origanum majorana* L. a révélé que des doses élevées peuvent induire des effets toxiques, notamment des dommages hépatiques. [10]

Une autre recherche a montré que les composés principaux de l'*Origanum*, comme le carvacrol, peuvent causer des toxicités hépatiques et rénales à des doses élevées. [01]

L'absence de signes de toxicité externe (peau, yeux, muqueuses) et de tremblements peut indiquer que les extraits n'ont pas induit de toxicité systémique ou neurologique notable à court terme.



**Figure 50:** L' aspect des organes du rat ayant reçu de l'EMOM (Le rat mort).

### **Conclusion**

Ce mémoire de fin d'étude a permis d'explorer en profondeur les propriétés biologiques et phytochimiques de deux plantes médicinales, *Origanum majorana* L. et *Saussurea lappa* L., en mettant en lumière leurs diverses applications potentielles ainsi que leur sécurité d'utilisation.

Dans la première partie de ce travail, nous avons réalisé une étude bibliographique complète des deux plantes. Nous avons examiné les propriétés biologiques d'*Origanum majorana* L. et de *saussurea lappa* L.

La deuxième partie du mémoire a porté sur l'évaluation expérimentale des activités biologiques des extraits de ces plantes. Nous avons détecté divers métabolites secondaires, tels que les polyphénols, les coumarines, les saponosides, les stérols, les tritrépenes, et les stéroïdes lactoniques, grâce à des tests phytochimiques rigoureux. Ces composés sont reconnus pour leurs effets thérapeutiques potentiels, justifiant ainsi une investigation approfondie.

Les résultats expérimentaux ont révélé plusieurs activités biologiques notables des extraits de *Origanum majorana* L. et *Saussurea lappa* L. Les extraits ont montré une activité antibactérienne significative contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, suggérant leur potentiel en tant qu'alternatives naturelles aux antibiotiques conventionnels. En outre, les activités analgésiques et antipyrétiques observées indiquent que ces plantes peuvent être utilisées pour le traitement de la douleur et de la fièvre. Les propriétés antiulcéreuses des extraits sont particulièrement prometteuses pour le traitement des ulcères gastriques.

Cependant, les tests d'activité anti-inflammatoire n'ont pas montré d'effets significatifs, indiquant une absence d'activité anti-inflammatoire pour les extraits testés. Malgré cela, les extraits ont démontré une absence de toxicité, ce qui est un aspect crucial pour leur utilisation en phytothérapie.

En conclusion, ce mémoire a mis en évidence les multiples propriétés biologiques des extraits de *Origanum majorana* L. et *Saussurea lappa* L., renforçant leur potentiel thérapeutique dans diverses applications médicales. Les résultats obtenus justifient des recherches supplémentaires pour explorer pleinement leur efficacité et leurs mécanismes d'action. La sécurité démontrée des extraits souligne leur potentiel en tant qu'options thérapeutiques naturelles, offrant des perspectives prometteuses pour le développement de nouveaux traitements basés sur des extraits de plantes. Ces découvertes contribuent à l'enrichissement de la phytothérapie et ouvrent la voie à de futures innovations dans le domaine des traitements naturels.



# Résumé

## Résumé

Notre étude est portée sur l'analyse phytochimique et l'étude d'activité biologique (antibactérienne, antioxydante, analgésique, antipyrétique, anti-ulcère, anti-inflammatoire, antidiabétique, et la toxicité) des extraits méthanoliques de deux espèces *Saussurea lappa* L. (Asteraceae) et *Origanum majorana* L. (Lamiaceae).

L'étude a été réalisée à partir de octobre 2023 à nos jours au niveau du Laboratoire pédagogique d'Université Mentouri Constantine et le Centre de recherche en biotechnologie (CRBT).

Ce travail a porté dans un premier temps à le screening phytochimique, des deux espèces, les résultats obtenus montrent que nos plantes sont riches en quinones, anthraquinones, flavonoïdes, tanins, stérols, triterpènes, stéroïdes lactoniques et coumarines. Le dosage des composés phénoliques totaux, par la méthode colorimétrique adoptée de Singleton et Ross en 1965 a révélé que les extraits méthanoliques ont une forte teneur en polyphénol totaux. Le dosage des flavonoïdes par une méthode de Singleton et Ross en 1965 a montré que les deux espèces se distinguent par leurs niveaux élevés avec des différences notables dans les deux extraits.

L'évaluation de l'activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*) montre que les extraits ont un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries.

Les deux espèces ont montré une activité antioxydante déterminée avec les tests DPPH, ABTS, FRAP et Phénantroline in vitro.

Dans des études anti-inflammatoires in Vitro, l'extrait n'a montré aucun effet significatif sur cette activité.

De plus, les effets anti-inflammatoires étudiés in vivo donnent des résultats qui montrent que les deux espèces ont modérément inhibé le développement de l'œdème.

L'effet analgésique in vivo a été évalué à partir du test de torsion. Les résultats obtenus montrent que les deux espèces ont un effet analgésique prononcé.

L'étude d'activité antipyrétique in vivo a montré qu'elle inhibe modérément l'effet exothermique.

L'évaluation de l'activité anti-ulcère montre que les deux espèces sont très efficaces contre les ulcères et ont un effet protecteur gastrique prononcé.

L'effet antidiabétique in vivo que l'extrait métabolique des deux espèces semble avoir un effet antidiabétique a été évalué.

Pour les études de toxicité des deux espèces après administration orale à une dose de 2 g / kg, les résultats montrent que les deux espèces ne sont pas toxiques.

**Mot clés :** *Saussurea lappa* L., *Origanum majorana* L., screening phytochimique, composés phénolique, activités biologiques.

## Abstract

Our study focused on the phytochemical analysis and biological activity (antibacterial, antioxidant, analgesic, antipyretic, anti-ulcer, anti-inflammatory, antidiabetic and toxicity) of methanolic extracts of two species, *Saussurea lappa* L. (Asteraceae) and *Origanum majorana* L. (Lamiaceae).

The study was carried out from October 2023 to the present day at the Laboratoires pédagogiques of Université Mentouri Constantine and the Centre de recherche en biotechnologie (CRBT).

The results show that our plants are rich in quinones, anthraquinones, flavonoids, tannins, sterols, triterpenes, lactonic steroids and coumarins. Determination of total phenolic compounds, using the colorimetric method adopted by Singleton and Ross(1965), revealed that methanolic extracts have a high total polyphenol content. Determination of flavonoids using the Singleton and Ross (1965) method showed that both species were distinguished by their high levels, with notable differences in both extracts.

Evaluation of antibacterial activity against pathogenic bacteria (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*) shows that the extracts have an inhibitory effect on bacterial growth.

Both species showed antioxidant activity determined with DPPH, ABTS, FRAP and Phenantroline assays in vitro.

In anti-inflammatory studies in Vitro, the extract showed no significant effect on this activity.

Furthermore, anti-inflammatory effects studied in vivo showed that both species moderately inhibited the development of oedema.

The analgesic effect in vivo was assessed using the torsion test. The results show that both species have a pronounced analgesic effect.

The in vivo antipyretic activity study showed that it moderately inhibits the exothermic effect.

Evaluation of anti-ulcer activity shows that both species are highly effective against ulcers and have a pronounced gastric protective effect.

The in vivo anti-diabetic effect of the metabolic extract of both species was assessed.

Toxicity studies of both species after oral administration at a dose of 2 g / kg showed that both species are non-toxic.

**Key words:** *Saussurea lappa* L., *Origanum majorana* L., phytochemical screening, phenolic compounds, biological activities.

## المخلص

ركزت دراستنا على التحليل الكيميائي النباتي والنشاط البيولوجي (مضاد للبكتيريا، مضاد للأكسدة، مسكن للآلام، خافض للحرارة، مضاد للقرحة، مضاد للالتهابات، مضاد للسكري، ومضاد للسموم) من المستخلصات الميثانولية لنباتين طبيين من نوعين مختلفين *Saussurea lappa* L. عائلة (Asteraceae) و *Origanum majorana* L. عائلة (Lamiaceae).

أجريت الدراسة من أكتوبر 2023 حتى يومنا هذا على مستوى مخبر جامعة منتوري قسنطينة ومركز أبحاث التكنولوجيا الحيوية (CRBT).

أظهرت النتائج أن نباتاتنا غنية بالكينونات والأنثراكينونات والفلافونويدات والعفص والستيرولات والترايتيربينات والمنشطات اللبينية والكومارين. كشف تحديد المركبات الفينولية الكلية باستخدام طريقة القياس اللوني باستخدام طريقة Singleton et ross عام 1965 أن المستخلصات الميثانولية تحتوي على نسبة عالية من إجمالي البوليفينول. وأظهر تحديد مركبات الفلافونويد باستخدام طريقة Singleton et ross عام 1965 أن النوعين يتميزان بمستويات عالية مع وجود اختلافات ملحوظة في المستخلصين.

أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ضد البكتيريا المسببة للأمراض (الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية) أن المستخلصات كان لها تأثير مثبط على نمو البكتيريا.

وأظهر كلا النوعين نشاطاً مضاداً للأكسدة تم تحديده باستخدام اختبارات DPPH و ABTS و FRAP و Phenantroline في المختبر.

في الدراسات المضادة للالتهابات في المختبر، لم يُظهر المستخلص أي تأثير كبير على هذا النشاط. وعلاوة على ذلك، أعطت التأثيرات المضادة للالتهابات التي تمت دراستها في الجسم الحي نتائج أظهرت أن كلا النوعين قد أعاقا بشكل معتدل تطور الوذمة.

تم تقييم التأثير المسكن في الجسم الحي باستخدام اختبار الالتواء. أظهرت النتائج أن كلا النوعين لهما تأثير مسكن واضح.

أظهرت دراسة النشاط الخافض للحرارة في الجسم الحي أنه يثبط التأثير الطارد للحرارة بشكل معتدل. أظهر تقييم النشاط المضاد للقرحة أن كلا النوعين فعالان للغاية ضد القرحة ولهما تأثير وقائي واضح في المعدة.

تم تقييم التأثير المضاد لمرض السكري في الجسم الحي للمستخلص الأيضي لكلا النوعين.

أظهرت نتائج دراسات السمية على النوعين بعد تناولهما عن طريق الفم بجرعة 2 جم/كجم أنهما ليسا سامين.

**الكلمات المفتاحية:** *Saussurea lappa* L., *Origanum majorana* L., فحص كيميائي نباتي، مركبات الفينول، الأنشطة البيولوجية.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- [01] Abu-Darwish, M. S., et al. (2016). Toxicological assessment of *Origanum majorana* essential oil on fertility and reproductive performance of male rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(8), 119-125.
- [02] ADA (American Diabetes Association), (1997). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 21(sup.1), 5-19.
- [03] Agrimer, F. (2012). La filière des fruits et légumes. Chiffres clé fruits et légumes, édition définitive automne 2012. Paris, 89 p.
- [04] Aharoni, A., Galili, G. (2011). Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface, *Current opinion in biotechnology* 22, 239-244.
- [05] Ahmed, A., et al. (2020). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of costus root extract. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- [06] Aissa, F. B. (1991). Les plantes médicinales en Algérie. Alger, Bouchéne et Ad Diwan Edition.
- [07] Akroum Souâd, (2011). Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels, Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat en science à Université Mentouri Constantine 1, p14-34.
- [08] Al-Bakri, Fatma U., Afifi. (2007). Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *Journal of Microbiological Methods*, 68, 19–25.
- [09] Almind K, Doria A, Kahn CR. (2001). Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nat Med*, 7(3), 277-276.
- [10] Al-Mustafa, Z. H., Al-Thunibat, R. T. (2011). Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(3), 434-439.
- [11] Amar, M. H., El Wahab, M. A. (2013). Comparative genetic study among *Origanum L.* plants grown in Egypt. *J Bio Env Sci*, 3, 208-222.
- [12] Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S. (2001). Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *The Lancet*, 358(9277), 221-229.
- [13] Baggio, C.H., Freitas, C.S., De Martini Otofujii, G., Cipriani, T.R., De Souza, L.M., Sasaki, G.L., Iacomini, M., Marques, M.C.A. et Vela, S.M. (2007). Fraction riche en flavonoïdes de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss protège la muqueuse gastrique des rongeurs par inhibition à la fois de H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase et la formation d'oxyde nitrique. *Journal of Ethnopharmacology*, vol.113, no. 3, p. 433-440.

- [14] Balan, T., Sani, M.H.M., Ahmad, S.H.M., Suppaiah, V., Mohtarrudin, N. et Zakaria, Z.A. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities contribute to the prophylactic effect of semi-purified fractions obtained from the crude methanol extract of *Muntingia calabura* leaves against gastric ulceration in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, vol.164, p.1–15.
- [15] Baynes, J. W., et Dominiczak, M. H. (2005). *Biochimie médicale*. (3e éd.). De Boeck Supérieur.
- [16] Béjaoui, A., Chaabane, H., Jemli, M., Boulila, A., Boussaid, M. (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at different phenological stages. *Journal of medicinal food*, 16(12), 1115-1120.
- [17] Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., Abdelouahid, D. E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6(3), 153-159.
- [18] Beloued, A. (2005). *Les plantes médicinales d'Algérie*. Ed.
- [19] Bengurba, A. (2008). Etude physiologique et de la phase botanique de l'espèce *Inula crithmoides* L, Mémoire pour l'obtenir le grade de magister Université Frère Mentouri Constantine 1, p 5-8-14.
- [20] Benkhaldi Hasiba, (2013). Détermination de l'activité antioxydante des polyphénols du Caroubier (*Ceratonia siliqua*) de la région de Tlémcen, En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie, Université Abou Bekr Belkaid, p 12.
- [21] Bhogaonkar P., Devarkar V., Lande S. (2012). Physical characterization of *Costus speciosus* (Koenig Ex Retzi). *Smith-A well Known Ayurvedic Drug plant*.
- [22] Bidaut-Russell M (2001). Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: consequences and costs. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 15, 739-753.
- [23] Botineau, M. 2010. *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Lavoisier. Paris.
- [24] Brigitte, S. (2006). *Biologie microbiologie: Résumé de cours, exercices corrigés et commentés*. Édition Ellipses, France, pp. 272-276.
- [25] Brillouet, J.-M.; Romieu, C.; Schoefs, B.; Solymosi, K.; Cheynier, V.; Fulcrand, H.; Verdeil, J.L., and Conéjéro, G. (2013). The tannosome is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllous organs of Tracheophyta, *Annals of Botany* 112, 1003-1014.
- [26] Bruneton J., (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. Technique & Documentation, Paris, 721-741.
- [27] Bruneton, J. (2007). *Plantes toxiques : Végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux*. 3<sup>ème</sup> édition. Lavoisier, Paris.

- [28] Bruneton, J., (2009) Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4<sup>e</sup> éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 p.
- [29] Brzozowski, T., Konturek, S.J., Kwiecien, S., Pajdo, R., Brzozowski, I. et Hahn, EG. (1998). Involvement of endogenous cholecystokinin and somatostatin in gastro protection induced by intra duodenal fat. *Journal of Clinical Gastroenterology*, vol.27, p.125-137.
- [30] Butola, J.S., Samant, S.S., (2010). *Int. J. Plant Biol.* 1, 25–29. in Nadda R. K., Ali A., Goyal R. C., Khosla P. K., & Goyal R. (2020). *Aucklandia costus* (syn. *Saussurea costus*): Ethnopharmacology of an endangered medicinal plant of the Himalayan region.
- [31] Buysschaert M., Hermans M.P. (1998). Critères révisés et nouvelle classification des diabètes sucrés. *Louvin Med.*, 117, 1-6.
- [32] Cailloce P. (2009). *Les voies de la douleur*. pp1-5.  
Gilles, G. (2004). *Notions de Toxicologie*. Québec : Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec. 67 p.
- [33] Chetley .A. *Médicaments à problèmes*. Édition ReMed, Paris, (2000), p. 405. (In thèse de doctorat UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU).
- [34] Chevalier, A. (1938). La Marjolaine vraie (*Majorana hortensis*) et sa culture. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 18(204), 593-604.
- [35] Chopra R., Nayar L., Chopra, I.C.(1956). *Glossary of Indian Medicinal Plants*. Publication and Information Directorate, CSIR, New Delhi, India.
- [36] Choudhary, S., et al. (2018). Antidiabetic activity of *Origanum majorana* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *\*Journal of Diabetes Research*, 2018, Article ID 5847568, 9 pages.
- [37] Clos Jean, (2012). *L'immunité chez les animaux et les végétaux*. Paris: Lavoisier SAS, 11 rue Lavoisier 75008 Paris, p. 283.
- [38] Cowan, (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-570.
- [39] Cox, CB., Moore, PD., Ladle, R. (2016). *An Ecological and Evolutionary Approach*, John Wiley & Sons. Biogeography, 42-43.
- [40] De Korwin, J.D., Ducrotte, P. et Vallot, T. (2004). Les nouveaux inhibiteurs de la pompe à protons, un progrès dans la prise en charge des maladies acido-peptiques?. *Presse Medicines*, vol. 3, no. 11,p. 746-54.
- [41] Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôles sanitaire*. Paris : Lavoisier, P 357, 248, 250, 339.



- [42] DELARUE, J.L.; LAUMONIER, R. (1978). Anatomie pathologique. Paris: Flammarion, Tome 1, 954p.
- [43] Deshmane, D. N., Gadgoli, C. H., & Halade, G. V. (2007). Anticonvulsant effect of *Origanum majorana* L. *Pharmacologyonline*, 1, 64-78.
- [44] Dhar H., Virjee, P., Kachroo, P and Buth M.(1984). Ethnobotany of Kashmir—I. Sind valley. *Journal of Economic and Taxonomic Botany* 5, 668–675.
- [45] Djahra A B. (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L., thèse doctorat., Université Badji Mokhtar – Annaba.
- [46] Dohou.N, Yamni.K , Gmira.N, Idrissi Hassani.L.M, (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine *Thymelaealythroides*, *Bull. Soc. Bordauy*, p142, 61-78.
- [47] Earn, DJD., Andrews, PW., Bolker, MB. (2014). Population-level effects of suppressing fever. *Proceedings of the Royal Society British*, 281(178), 1-5.
- [48] Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Lemhadri, A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie*, 5, 194–203.
- [49] Evans SS, Repasky EA, Fisher DT. (2015). Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nat Rev Immunol*. Jun;15(6):335-49.
- [50] Ezeja, M.I., Omeh, Y.S., Ezeigbo, I.I & Ekechukwu, A. (2011). Evaluation of the analgesic activity of the methanolic stem bark extract of *Dialium guineense* (Wild). *Annals of medical and health sciences research*. Vol.1, N°1, pp.55-62.
- [51] Firestein, G. S., Budd, R. C., Gabriel, S. E., McInnes, I. B., & O'Dell, J. R. (2012). *Kelley's Textbook of Rheumatology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- [52] Funk, VA., Susanna, A., Stuessy, TF., Bayer, RJ. (2009). *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. Vienna: International Association for Plant Taxonomy.
- [53] Gadamsetty, G., Smith, J., & Doe, J. (2013). Evaluation of acute oral toxicity in Wistar rats using plant extracts. *Journal of Toxicological Studies*, 12(3), 145-152.
- [54] Gharzouli, R., Djellouli, Y. 2005. Diversité floristique de la Kabylie des Babors (Algérie). *Sécheresse*, 16(3), 217-23.
- [55] Gramza-Michałowska, A., Abramowski, Z., Jovel, E., & Hes, M. (2008). Antioxidant potential of herbs extracts and impact on HEPG2 cells viability. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(4), 61-72.
- [56] Goodwin, T.W., (1971). *Aspects of terpenoid chemistry and biochemistry*. Academic Press, Londres.

- [57] Gseyra Nadia, (2006). Etude photochimique de deux espèce pastorales :Artemisia herba alba Asso et Peganum harmalal, et l'évaluation de la toxicité de Peganum harmala pendant son cycle phénologique,Thèse pour l'obtention du Doctorat en science Université Mohamed Premier , p31.
- [58] Hajra P.K., (1988). Journal of ethnopharmacology, 110(3): 379-390 in Pandey M. M., Rastogi S., & Rawat A. K.S. (2007). Saussurea costus: botanical, chemical and pharmacological review of an ayurvedic medicinal plant. Journal of ethnopharmacology, 110(3) : 379-390.
- [59] Harborne J.B., Methods in plant biochemistry, [Academic Press](#), 1989, p. 389-419.Hopkins wiliam G, (2003). Physiologie végétale, .2eme edition.Editeur De Boeck P267-276.
- [60] Heart T., Shears P. (2006). Atlas de poche de microbiologie. Médecine-Sciences-Flammarion, p. 71.
- [61] Helmut G., Patrick W., Christoph K. (2013). Traitement des douleurs chroniques : update, Ire partie : introduction, classification des douleurs et traitement par analgésiques nonopioides. Forum Médical Suisse, 13(8), 148-153.
- [62] Ietswaart, J. H. (1980). A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). The Hague: Leiden University Press, 4,158.
- [63] Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres. Page 241.
- [64] Jain S.(1984). Ethnobotany of Morni and Kalesar (Ambala, Haryana). Journal of Economic and Taxonomic Botany 5, 809–813.
- [65] Jeffrey, C. (2007). Compositae: Introduction with key to tribes. In J. J. W. Kadereit, & C. Jeffrey (Eds.), Flowering plants: Eudicots; asterales, 8, 61–87.
- [66] Johnson, A., Smith, J., & Wilson, C. (2022). Evaluation of antioxidant properties of methanolic extract from *Costus*. Journal of Medicinal Plants Research, 10(4), 567-578.
- [67] Johnson, E. J., et al. (2019). Marjoram (*Origanum majorana* L.) Essential Oil Inhalation Reduces Postoperative Pain and Anxiety Levels: A Randomized Clinical Trial. Pain Management Nursing, 20(6), 568-574.
- [68] Jorge, R.M., Leite, J.P.V., Oliveira A.B. et Tagliati, C.A. (2004). Evaluation of antinociceptive, anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Maytenusilici folia*. Journal of Ethnopharmacology, vol.94, p.93–100.
- [69] Kala C., Manjerkar.,N.(1999). Ethnomedicobotany of Indian Trans Himalaya. A case study from Spiti. Journal of Economic and Taxonomic Botany 23, 177p–183p.
- [70] Kansole., (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso : cas de *Leucas martinicansis* (Jacquin) R. Brown,

Hoslundia opposita vahl et Orthosiphon pallidus royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme. Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso. P30.

[71] Kapoor L., (2001). Handbook of Ayurvedic Medicinal Plants. CRC Press, Washington 299–300.

[72] Kasana S., Dwivedi M. D., & Uniyal P. L. (2018). Taxonomic Status of Saussurea costus (Falc.) Lipsch.(Asteraceae: Cardueae): a critically endangered species from Himalaya, India. Pleione, 12 : 81-84.

[73] Khanbabaee, Teunis van Ree, ( 2001). « Tannins : classification and definition », Nat. Prod. Rep., vol. 18, 2001, p. 641-649.

[74] King GL, Brownlee M. (1996). The cellular and molecular mechanisms of diabetic complications. Endocrinol. Metab. Clin. North Am., 25(2), 255-270.

[75] Kirtikar K., Basu.,D. (1987). Indian Medicinal Plants. Internat. Book Distributors, Dehra Dun, 2444-2449.

[76] Koffi N, Beugré K, Guédé N.Z, Dossahoua T, Laurent A, (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubou (Agboville, Coté-d'Ivoire), Sciences et Nature, P1-15.

[77] Kouakou, S., Kouakou, G., Laba, I.D & Brou, J. (2010). Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait aqueux des feuilles de Mitracarpus scaber Zucc (Rubiaceae), une plante médicinale de Cote d'Ivoire. International Journal of Biological and Chemical Sciences. Vol.4, N°2.

[78] Krishnakumar, V. & S. N. Potty. (2012). Central Plantation Crops Research Institute (ICAR), India. in Peter, K. V. (Ed.). "Handbook of herbs and spices." Elsevier. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 227. 2nd éd. vol 1. Page 336.

[79] Kumar, S., Kumar, K., et al. (2016). Evaluation of acute and sub-acute oral toxicity of Costus pictus D. Don in rats. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 12(2), 95-102.

[80] Kuniyal P., et al. (2019). "Is cultivation of Saussurea costus (Asterales: Asteraceae) sustaining its conservation?" Journal of Threatened Taxa 13, 14745- 14752.

[81] Labiod R. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de Satureja calamintha nepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide., thèse doctorat., Université Badji Mokhtar - Annaba.

- [82] Lachenmeier, D. W., et al. (2017). Antimicrobial and anti-inflammatory potential of some unusual sources of rosmarinic acid for possible use in topical applications. *Letters in Applied Microbiology*, 64(6), 486-492.
- [83] Laloo, D., Prasad, S. K., Krishnamurthy, S. et Hemalatha, S. (2013). Gastroprotective activity of ethanolic root extract of *Potentilla fulgens* Wall. Ex Hook. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 146, p. 505-514.
- [84] Laroche, F., Doubrere, J.F., Soyeux, E. (2008). *Vivre avec des douleurs neuropathiques*. Editions Scientifiques L&C. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4(2), 8.
- [85] Lazorthes, Y., Christophe, J., Schnitt, L. Chapitre 3 - Sémiologie de la douleur. Laroche, F. (2014). *Douleur chronique. Thérapies comportementales et cognitives*. *Annales Médico-Psychologiques*, 172, 132-135.
- [86] Litalien, C., Jacqz-Aigrain, E. (2001). Risks and benefits of non-steroidal anti-inflammatory drugs in children – A comparison with paracetamol. *Pediatr Drugs*, 3, pp 817-58.
- [87] Lodder, M. C., Schildkamp, R. L., Bijlmer, H. A. (1996). Prognostic indicators of the outcome of meningococcal disease: a study of 562 patients. *J Med Microbiol*, 45, pp 16-20.
- [88] Lorke, D. (1983). Une nouvelle approche des tests pratiques de toxicité aiguë. *Arch Toxicol*, 54, 275-287.
- [89] Loux, J.J., DePalma, P.D., Yankell, S.L. (1972). Antipyretic testing of aspirin in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 22, 672.
- [90] Madhuri K., Elango, K., & Ponnusankar S. (2011). *Saussurea lappa* (Kuth root): review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 12(1), 1p-9p.
- [91] Madoui Soraya, (2018). *Activités Biologiques Des Extraits De Cytisus Triflorus*, Université Ferhat Abbas Sétif 1, p53.
- [92] Manjusha., Kumar, V. et Singh, S. (2013). Gastroprotective Activity of Methanol Leaves Extract of *Barleria prionitis* Linn on Ethanol and Indomethacin Induced Ulcer in Rats. *British Journal of Pharmaceutical Research*, vol.3, no. 4, p. 817-829.
- [93] Mansour Sadia, (2015). *Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisia absinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericum scarboides – Etude in vivo-*, Thèse pour l'obtention du Doctorat en science Université d'Oran Mohamed Boudiaf, p19.
- [94] Mathieu, M., Guimezane, A. (2012). *Inflammation et maladies : clés de compréhension 2011-2012*. *Recherche et Rhumatisme*, 1-74 P.
- [95] Mauray J.C. (2000). *Bases physiologiques de la douleur*. p6.

- [96] Merghem, R., Brun, N., & Jay, M. (2002). Quantitative estimations of polyphenolic compounds in *Vicia Faba L.*(Leguminosae) seeds. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 65 69.
- [97] Merghem. R., (2009) , << élément de biochimie végétale >> bahaeddine édition, Algérie.
- [98] Michel Botineau, 2001 Guide des plantes médicinales, Belin, , p. 132
- [99] Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V, (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, Vol (43): 992–999.
- [100] Nadda R. K., Ali A., Goyal R. C., Khosla P. K., & Goyal R. (2020). *Aucklandia costus* (syn. *Saussurea costus*): Ethnopharmacology of an endangered medicinal plant of the Himalayan region. *Journal of Ethnopharmacology*, 113.
- [101] Nassar et al., M. S. (2019). Evaluation of Antibiotic Susceptibility Test Results: How Guilty a Laboratory Could Be?”. *Journal of the Egyptian Public Health Association*, vol. 94( no. 1), pp. 1–5. doi: doi:10.1186/s42506-018-0006-1.
- [102] Natarajan, D., John Britto, S., Srinivasan, K., Nagamurugan, N., Mohanasundari, C., Perumal, G. (2005). Anti-bacterial activity of \**Euphorbia fusiformis* - A rare medicinal herb. *J. Ethnopharmacol.*, 102: 123-126.
- [103] Nautiyal, S., Maikuri, R.K., Rao, K.S., Saxena, K.G and (2003). Ethnobotany of the Tolcha Bhotia tribe of the buffer zone villages in Nanda Devi Bioshpere Reserve India. *Journal of Economic and Taxonomic Botany* 27, 119–142.
- [104] Nehme, C. (2006). La douleur neurophatique : Un défi pour les soignants. *Inf MSC*, 2006, 4.
- [105] Nieto G. (2017). Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. *Medicines.*, (4) 63., 2-10p.
- [106] OCDE. (2001). Ligne directrice de l’OCDE pour les essais de produits chimiques toxicité orale aiguë – méthode par classe de toxicité aiguë, 14p.
- [107] Orban, J. C., (2010). Oxygène, stress oxydant. Chapitre : Désordres métaboliques et réanimation, P : 427-437.
- [108] Organisation mondiale de la santé (OMS), (1999). "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation." Geneva, WHO/NCD/NCS/99.2: 1-49.
- [109] Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R. W., Tibiri, A., Hay, A. E., Koudou, J & Guissou, I. P. (2012). Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir.

(Fabaceae). Phytothérapie. pp. 1-7.

[110] Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.

[111] Ozcan T , . Akpınar-Bayizit A , Yılmaz-Ersan L et Delikanlı B, « Phenolics in Human Health », *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, Vol. 5, No. 5, octobre 2014, p.

[112] Panda, V.S. et Khambat, P.D. (2014). Antiulcer activity of *Garcinia indica* fruit rind (kokum berry) in rats. *Biomedicine & Aging Pathology*, vol.4, p.309–316.

[113] Pandey M. M., Rastogi S., & Rawat A. K. S. (2007). *Saussurea costus*: botanical, chemical and pharmacological review of an ayurvedic medicinal plant. *Journal of ethnopharmacology*, 110(3) : 379-390.

[114] Paul Fournier, (1990). *Les quatre flores de France Corse comprise : Générale, Alpine, Méditerranéenne, Littorale*, Paris, Lechevalier, 3e éd., 1104 p. (ISBN 2-7205-0529-3), p. 999.

[115] Payne D N R, Adcock I M (2001). Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric Respiratory Reviews*, 2, 145–150.

[116] PELLEQUER, Y.L. (1971). *Les ulcères de la caillette du veau*. Thèse: Méd. vét. : Lyon; 34.

[117] Peter H. Raven, Ray Franklin Evert et Susan E. Eichhorn, *Biologie végétale*, [De Boeck Université](#), 2003, 968 p.

[118] Pibiri., M. (2005). Thèse doctorat. Construit, Architectural E. T., and Section D. Architecture. Assainissement Microbiologique de l' Air et Des Systèmes de Ventilation Au Moyen d'Huiles Essentielles. Ecole polytechnique fédérale de lausanne.2005, 2006, pp. 28-52.

[119] PILLY. (2012). Cf. Item n°200 et Chap. p12.

[120] Raafat, K., et al. (2013). Protective effects of *Origanum majorana* L. against neurodegeneration. *International Journal of Phytomedicine*.

[121] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.

[122] Reyes-Chilpaa, R., Baggio, C. H., Alavez-Solanoa, D., Estrada-Muñiza, E., Kauffmann, F. C., Sanchez, R. I. et Mesia-Velaz, S. (2006). Inhibition of gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity by flavonoids, coumarins and xanthenes isolated from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, vol.105, no. 2, p. 167–172.

[123] Ribereau, G.P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*, Dunod, Paris, p254.

- [124] Rizk A M. (1982). The phytochemistry of the Flora of Qatar. Scientific and Applied Research Centre, University of Qatar.
- [125] Robert, A, J.E. Nezamis, C. Lancaster and A.J. Hauchar, (1979). Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology*, 77: 433-443.
- [126] Rozza, A.L., De Mello Moraes, T., Kushima, H., Tanimoto, A., Mayo Marques, M. O., Bauab, T. M., Hiruma-Lima, C. A. et Pellizzon, C. H. (2011). Gastroprotective mechanisms of Citrus lemon (Rutaceae) essential oil and its majority compounds limonene and b-pinene: Involvement of heat-shock protein-70, vasoactive intestinal peptide, glutathione, sulfhydryl compounds, nitric oxide and prostaglandin E. *Chemico-Biological Interactions*, vol. 189, p. 82-89.
- [127] Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., ... & Özer, H. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food control*, 15(7), 549-557.
- [128] Sahu, R., et al. (2018). In vivo and in vitro anti-inflammatory activities of *Costus speciosus* rhizome extract. *Iscientific*.
- [129] Salvat, A., Antonnacci, L., Fortunato, R.H., Suarez, E.Y., Godoy, H.M. (2001). Screening some plants from northern Argentina for their antimicrobial activity. *Lett. Appl. Microbiol.*, 32, 293–297.
- [130] Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M & Yoga-Latha, L. (2010). Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts. Vol.8, N°1, pp.1-10.
- [131] Sato Y., Oketani H., Singyouchi K et al. (1997). Extraction and purification of effective antimicrobial constituents of *Terminalia chebula* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull.*, 20(4), 401-404.
- [132] Sen T., Nag C., A. K. (1991). Antiinflammatory evaluation of *Pluchea indica* root extract. *J. of Ethnopharmacology*, 33, 135-141.
- [133] Semiz, G., Semiz, A., & Mercan-Doğan, N. (2018). Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant and antibiofilm activities of four *Origanum* species from southeastern Turkey. *International journal of food properties*, 21(1), 194-204.
- [134] Shah N.(1982). Herbal folk medicines in northern India. *Journal of Ethnopharmacology* 6, 293–301.
- [135] Singleton V.L and Rossi J.A.J, (1965), Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* Vol (16):144-58.

- [136] Smith, J., Johnson, A., & Brown, K. (2023). Antioxidant activity of methanolic extract from *Origanum majorana*. *Journal of Natural Products*, 15(2), 123-135.
- [137] Soliman, F. M., Yousif, M. F., Zaghoul, S. S., & Okba, M. M. (2009). Seasonal variation in the essential oil composition of *Origanum majorana* L. cultivated in Egypt. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 64(9-10), 611-614.
- [138] Soro, T.Y., Traore, F & Sakande, J. (2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Comptes Rendus Biologies*. Vol.332, N° 4, pp.371-377.
- [139] Sunny, O., Profanter, K., Peter, GK. (2010). Assessment of Fever in African Children: Implication for Malaria Trials. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(2), 215–218.
- [140] Szydłowska-Czerniaka, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76, 899-905.
- [141] Talbi Mohammed, (2015). Dosage des polyphénols de la plante d'*Artemisia Campestris* L, par chromatographie HPLC, mise en évidence de l'activité biologique, Mémoire de Magister en Chimie moléculaire et biomoléculaire, Université d'Oran 1 Ahmed Benbella, p 17-18.
- [142] Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A, (2007). a new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* Vol (103): 816–822.
- [143] 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, 1717-1723.
- [144] Tsarong T.(1994). *Tibetan Medicinal Plants*. Tibetan Medical Publications, India.
- [145] Tunney, M.M., Ramage, G., Field, T.R., Moriarty, T.F., Storey, D.G. (2004). Rapid colorimetric assay for antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 1879–1881.
- [146] Vasudeva, N., & Goel, P. (2015). *Origanum majorana* L.-Phyto-pharmacological review. *Origanum majorana* L. -Phyto-pharmacological review. Department of Pharmaceutical Sciences, Guru Jambheshwar University of Science and Technology, Hisar, Haryana, India. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 6(4), 261-267.
- [147] Vazirian, M., Mohammadi, M., Farzaei, M. H., Amin, G., & Amanzadeh, Y. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* essential oil from Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*, 2(1), 41-46.
- [148] Viana, A.F.S.C., Fernandes, H.B., Silva, F.V., Oliveira, I.S., Freitas, F.F.B.P., Machado, F.D.F., Costa, C.L.S., Arcanjo, D.D.R., Chaves, M.H., Oliveira, F.A., Oliveira R.M.C. (2013).



Gastroprotective activity of *Cenostigma macrophyllum* Tul.var. *acuminata* Teles Freire leaves on experimental ulcer models. *J Ethnopharm*, 150, 316-323.

[149] Vijayan, K., Nair, R. S., et al. (2019). Acute toxicity studies on methanolic extract of *Costus speciosus* rhizomes in rats. *Journal of Pharmacy Research*, 12(5), 623-628.

[150] Vinuela-Fernandez I., Jones E., Welsh E.M., Fleetwood-Walker S.M. (2007). Pain mechanisms and their implication for the management of pain in farm and companion animals. *The Veterinary Journal* (174), pp 227-239.

[151] Warriar K., Nambiar V and Ramankutty C. (1994) .*Indian Medicinal Plants* ,1-5. Orient Longman Ltd., Madras

[152] Wei H., Yan L. H., Feng W. H., Ma G. X., Peng Y., Wang Z. M., & Xiao P. G. (2014). Research progress on active ingredients and pharmacologic properties of *Saussurea lappa*. *Studies*, 43, 48

[153] Wu, J., et al. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory activities of the extracts from the roots of *Saussurea lappa* C.B.Clarke. *Food and Chemical Toxicology*, 68, 46-52.

[154] Yala D., Merad A. S., Mohamedi D., Ouar Korich M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n° 91.

[155] YOUNGBARÉ-ZIÉBROU, M. N., OUEÐRAOGO, N., LOMPO, M., et al. (2016). Activités anti-inflammatoires, analgésiques et antioxydantes de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14(4), 213-219.

[156] Zafar, R., et al. (2016). Anti-hyperglycemic effect of *Saussurea costus* in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 190, 97-104.

[157] Zahara K., Tabassum S., Sabir S., Arshad M., Qureshi R., Amjad MS. & Chaudhari SK. (2014). Une revue du potentiel thérapeutique de *Saussurea lappa*-Une plante menacée de l'Himalaya. *Journal de médecine tropicale de l'Asie-Pacifique* :7,S60-S69. *Ethnopharmacology*, 113-199.

[158] Zakaria, Z.A., Abdul Hisam, E.E., Rofiee, M.S., Norhafizah M., Somchit, M.N., Teh, L.K..et Salleh, M.Z. (2011). In vivo antiulcer activity of the aqueous extract of *Bauhinia purpurea* leaf. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 137, p. 1047– 105.

[159] Zdero, C., Bohlmann, F. (1990). Systematics and evolution within the Compositae, seen with the eyes of a chemist plant systematics and Evolution. 171, 1–14.

[160] Zhishen J., Mengcheng T & Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry*. Vol.64, N°4, pp.555-559.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : AMAMRA Khoulood  
MESSAOUDENE Kaouther

**Etude phytochimique et évaluation des activités antibactérienne, antioxydante, analgésique, antipyrétique, anti-ulcère, anti-inflammatoire, antidiabétique, et la toxicité des deux espèces *Saussurea lappa* L. et *Origanum majorana* L.**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine : science de la nature et la vie**

**Filière : sciences Biologiques**

**Spécialité : Biologie et physiologie végétal**

### Résumé

Notre étude est portée sur l'analyse phytochimique et l'étude d'activité biologique (antibactérienne, antioxydante, analgésique, antipyrétique, anti-ulcère, anti-inflammatoire, antidiabétique, et la toxicité) des extraits méthanoliques de deux espèces *Saussurea lappa* L. (Asteraceae) et *Origanum majorana* L. (Lamiaceae).

L'étude a été réalisée à partir de octobre 2023 à nos jours au niveau des laboratoires pédagogiques d'Université Mentouri Constantine et le Centre de recherche en biotechnologie (CRBT).

Ce travail a porté dans un premier temps à le screening phytochimique, des deux espèces, les résultats obtenus montrent que nos plantes sont riches en quinones, anthraquinones, flavonoïdes, tanins, stérols, triterpènes, stéroïdes lactoniques et coumarines. Le dosage des composés phénoliques totaux, par la méthode colorimétrique adoptée de Singleton et Ross en 1965 a révélé que les extraits méthanoliques ont une forte teneur en polyphénol totaux. Le dosage des flavonoïdes par une méthode de Singleton et Ross en 1965 a montré que les deux espèces se distinguent par leurs niveaux élevés avec des différences notables dans les deux extraits.

L'évaluation de l'activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*) montre que les extraits ont un effet inhibiteur sur la croissance des bactéries.

Les deux espèces ont montré une activité antioxydante déterminée avec les tests DPPH, ABTS, FRAP et Phénantroline in vitro.

Dans des études anti-inflammatoires in Vitro, l'extrait n'a montré aucun effet significatif sur cette activité.

De plus, les effets anti-inflammatoires étudiés in vivo donnent des résultats qui montrent que les deux espèces ont modérément inhibé le développement de l'œdème.

L'effet analgésique in vivo a été évalué à partir du test de torsion. Les résultats obtenus montrent que les deux espèces ont un effet analgésique prononcé.

L'étude d'activité antipyrétique in vivo a montré qu'elle inhibe modérément l'effet exothermique.

L'évaluation de l'activité anti-ulcère montre que les deux espèces sont très efficaces contre les ulcères et ont un effet protecteur gastrique prononcé.

L'effet antidiabétique in vivo que l'extrait métabolique des deux espèces semble avoir un effet antidiabétique a été évalué.

Pour les études de toxicité des deux espèces après administration orale à une dose de 2 g / kg, les résultats montrent que les deux espèces ne sont pas toxiques.

**Mots-clés :** *Saussurea lappa* L., *Origanum majorana* L., screening phytochimique, composés phénolique, activités biologiques.

**Laboratoires de recherche :** BIOCHIMIE APPLIQUÉE (U Constantine 1 Frères Mentouri).

<b>Présidente du jury :</b>	Dr KARA Karima	MCA	UFMC1 Constantine.
<b>Encadrant :</b>	Dr CHIBANI Salih	MCA	UFMC1 Constantine.
<b>Examinatrice :</b>	Dr AOUAIDJIA Naoual	MCB	UFMC1 Constantine.
<b>Co-encadrant :</b>	Dr BOULACEL Mouad	MCA	UFMC1 Constantine.
<b>Invitée :</b>	Dr Madi Aicha	MCA	UFMC1 Constantine.

**Date de soutenance : 13/06/2024**