

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1  
Frères Mentouri Constantine 1 University  
Université des Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biochimie et Biologie  
Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.  
Spécialité : Biochimie.

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Caractérisation moléculaire de l'extrait hydro alcoolique  
d'*Origanum vulgare* et l'étude du pouvoir antioxydant.**

---

Présenté par : MADACI ABD ELMOUMEN

Le : 29 / 06/ 2022

DEFFAS BEDREEDDINE

Jury d'évaluation :

Encadreur : MERGHEM Rachid (Pr – UFM Constantine 1).

Examineur 1 : NOUADRI TAHAR (Pr – UFM Constantine 1).

Examineur 2 : MEDOUKALI IMANE (MCB– UFM-Constantine).

Année universitaire

2021/2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1  
Frères Mentouri Constantine 1 University  
Université des Frères Mentouri Constantine 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biochimie et Biologie  
Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.**  
**Filière : Sciences Biologiques.**  
**Spécialité : Biochimie.**

N° d'ordre :  
N° de série :

Intitulé :

---

**Caractérisation moléculaire de l'extrait hydro alcoolique  
d'*Origanum vulgare* et l'étude du pouvoir antioxydant.**

---

Présenté par : MADACI ABD ELMOUMEN

Le : 29 / 06/ 2022

DEFFAS BEDREDDINE

Jury d'évaluation :

Président : MERGHEM Rachid (Pr – UFM Constantine 1).

Examineur 1 : NOUADRI TAHAR (Pr – UFM Constantine 1).

Examineur 2 : MEDOUKALI IMANE (MCB – UFM-Constantine).

**Année universitaire**

**2021/2022**

## **Remerciement :**

*Au nom d'Allah SWT, le Très Miséricordieux et le Plus Miséricordieux.  
Toutes les louanges à Allah et Sa bénédiction pour l'achèvement de ce travail.*

*Nous tenons particulièrement à remercier le **Professeur Merghem Rachid** à Université Frères Mentouri Constantine1, pour avoir accepté de nous encadrer, pour la confiance qu'il nous a accordé, et les conseils prodigués tout au long de la réalisation de ce modeste travail. Nous lui exprimons notre gratitude pour nous avoir fourni les outils méthodologiques indispensables.*

*Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et notre gratitude envers tous ceux qui nous ont soutenu et encouragé tout au long de cette traversée du désert et nous ont permis de redoubler d'effort et de persévérance.*

*Nos vifs remerciements pour les membres de jury le professeur **Nouadri Tahar** et **Medoukali Imane** qui nous ont fait l'honneur de juger ce mémoire.*

## *Dédicace*

*Avec l'aide d'ALLAH♥ ;*

*Le tout puissant ;*

*Ce travail est achevé*

*; Je le dédie...*

*À mes chers parents qui m'ont aidé à être ce que je suis ; avec  
tant d'amour et d'affection*

*À ma chères sœurs et mes chers frère ; pour leur aide  
Et leur soutien moral.*

*À toutes mes amies ;*

*Et à tous ceux qui me sont chers...*

*A mon cher chat Dibou.*

*À moi-même*

*Abd El Moumen*

## *Dédicace*

*Nous remercions ALLAH♥*

*Qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage  
d'entamer et terminer ce mémoire.*

*Je dédie ce travail...*

*À mes chers parents ; qui m'ont tout donné sans rien attendre en  
retour.*

*À toute ma famille ; toutes mes sœurs et tous mes frères ;*

*Et tous ceux qui me sont chers*

*À moi-même*

*Badre Eddine.*

## LISTE DES FIGURES :

<b>Figure 1:</b> L'espèce <i>Origanum vulgare</i> ( <b>Origanum vulgare — wild marjoram, s. d.</b> ).....	4
<b>Figure 2 :</b> Distribution du genre <i>Origanum</i> dans le monde ( <b>Ietswaar, 1980</b> ).....	5
<b>Figure 3:</b> Tige et feuilles de l'espèce <i>O. vulgare</i> ( <b>Origanum vulgare — wild marjoram, s. d.</b> ).....	5
<b>Figure 4:</b> Les fleurs d' <i>Origanum vulgare</i> ( <b>Origanum vulgare — wild marjoram, s. d.</b> ).....	6
<b>Figure 5:</b> Quelques exemples d'acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1) ( <b>Merghem, 2009</b> ).....	12
<b>Figure 6:</b> La structure des C6-C3 dérivés de l'acide cinnamique ( <b>Merghem, 2009</b> ).....	12
<b>Figure 7:</b> Structure des coumarines ( <b>Merghem, 2009</b> ).....	13
<b>Figure 8:</b> (A) structure d'une lignane ( <b>Merghem, 2009</b> ), (B) ressemblance entre la lignine de lin et l'œstradiol ( <b>Lambli et al, 2008</b> ). ....	13
<b>Figure 9:</b> Structure générale d'un flavonoïde ( <b>Singla, R. et al., 2019</b> ). ....	14
<b>Figure 10:</b> les différentes classes de flavonoïdes ( <b>Singla, R. et al., 2019</b> ). ....	15
<b>Figure 11:</b> Coupe schématique d'une artère saine et d'une artère artérioscléreuse : place de l'endothélium vasculaire ( <b>Guérin-Dubourg, A</b> ).....	20
<b>Figure 12:</b> Structures des Acarbose et Miglitol ( <b>Griffith, 2012</b> ).....	21
<b>Figure 13:</b> <i>Origanum vulgare</i> .....	22
<b>Figure 14:</b> L'extrait méthanolique d'origan.....	23
<b>Figure 15:</b> Affrontement par les solvants dans l'ampoule à décanter. ....	24
<b>Figure 16:</b> Schéma récapitulatif d'extraction et d'analyse des polyphénols ( <b>Merghem, 2009</b> ). .....	26
<b>Figure 17:</b> Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau ( <b>Bouhelassa. M, 2018</b> ).....	30
<b>Figure 18:</b> Spectre d'absorption d'un flavonoïde ( <b>Khelfllah A, 2013</b> ). ....	31
<b>Figure 19:</b> Graphique montrant le changement de la couleur du DPPH du violet au jaune ( <b>Benattia., 2017</b> ).....	33
<b>Figure 20:</b> CCM analytique des flavonoïdes d' <i>O.vulgare</i> sur la plaque de polyamide DC6. A : à la lumière visible, B : au UV 365nm, C : à la lumière visible après pulvérisation par réactif NEU, D : au UV 365nm après pulvérisation par le réactif NEU. ....	35
<b>Figure 21:</b> Les spectres des différentes phases : Ether, MEC, H <sub>2</sub> O et Acétate.....	37
<b>Figure 22:</b> spectre d'absorption d'acide gallique ( <b>Mansuri et al., 2019</b> ).....	38

<b>Figure 23:</b> Temps de changement de couleur de DPPH en fonction de la quantité d'extrait. .40	
<b>Figure 24:</b> Augmentation des recherches sur "diabète et polyphénols" depuis 2010 ( <b>Sun et al., 2020</b> )......41	
<b>Figure 25:</b> les effets antidiabétiques des polyphénols ( <b>Sun et al., 2020</b> )......42	
<b>Figure 26:</b> Effets antidiabétiques des polyphénols alimentaires ( <b>Sun et al., 2020</b> )......43	
<b>Figure 27:</b> L'effet préventif des polyphénols à chaque niveau du diabète ( <b>Umeno et al., 2016</b> ). .....44	

## LISTE DES TABLEAUX :

<b>Tableau 1:</b> ROS : diversité et nature chimique (Sies, H, 2017).....	7
<b>Tableau 2:</b> Les différentes classes de polyphénols (Merghem, 2009). .....	10
<b>Tableau 3:</b> Les types de diabète sucré (Sahnine, N.et al, 2018).....	16
<b>Tableau 4:</b> Caractéristiques des diabètes de type 1 et de type 2 (Sahnine, N.et al, 2018). ....	18
<b>Tableau 5:</b> les différentes causes du diabète (Sahnine, N.et al, 2018).....	19
<b>Tableau 6:</b> Relation entre la fluorescence du spot et la structure des flavonoïdes (Lahoual, 2005).....	29
<b>Tableau 7:</b> Principales caractéristiques des spectres UV-Visible des flavonoïdes (Markham, 1982).....	32
<b>Tableau 8:</b> Mise en évidence des flavonoïdes présents dans les différentes phases d'extraction. ....	36
<b>Tableau 9:</b> Résultats de DPPH par changement de couleur. ....	39

## TABLE DES MATIERS :

<b>Remerciement :</b> .....	<b>3</b>
<b>Dédicace</b> .....	<b>4</b>
<b>LISTE DES FIGURES :</b> .....	<b>6</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX :</b> .....	<b>8</b>
<b>Introduction générale :</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I : L'espèce <i>Origanum vulgare</i>.</b> .....	<b>3</b>
<b>I. Généralités sur le genre <i>Origanum</i> :</b> .....	<b>3</b>
1. Nomenclature :.....	3
2. Description botanique du genre <i>origanum</i> : .....	3
<b>II. L'espèce <i>Origanum vulgare</i> :</b> .....	<b>4</b>
1. Position systématique :.....	4
2. Description et distribution d' <i>Origanum vulgare</i> : .....	5
3. L'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> : .....	6
<b>Chapitre II : Le stress oxydatif.</b> .....	<b>3</b>
<b>I. Le stress oxydatif :</b> .....	<b>7</b>
<b>II. Les ROS espèces réactives de l'oxygène et leur origine :</b> .....	<b>7</b>
<b>III. Les défenses antioxydantes :</b> .....	<b>8</b>
1. Superoxyde dismutase SOD : .....	8
2. La catalase : .....	8
3. Glutathion peroxydase (GPxs) :.....	9
4. Le système thioridoxines :.....	9
5. Glutathion S peroxydase GST :.....	9
<b>Chapitre III : Les composés phénoliques.</b> .....	<b>3</b>
<b>I. Les composés phénoliques :</b> .....	<b>10</b>
<b>II. Voies de biosynthèse des polyphénols :</b> .....	<b>10</b>

<b>III. Les principales classes des polyphénols :</b>	<b>11</b>
1. Les acides phénoliques :	11
2. Les coumarines :	13
3. Les lignanes :	13
4. Les flavonoïdes :	14
<b>Chapitre IV : Le diabète.</b>	<b>8</b>
<b>I. Définition du diabète:</b>	<b>16</b>
<b>II. Les différents types de diabète :</b>	<b>16</b>
1. Diabète type 1 :	17
2. Le diabète de type 2 :	18
3. La différence entre diabète 1 et 2 :	18
<b>III. Les causes de diabète :</b>	<b>19</b>
<b>IV. Les complications du diabète :</b>	<b>20</b>
<b>V. Les antidiabétiques et leurs effets secondaires :</b>	<b>21</b>
<b>Chapitre V : Matériels et méthodes.</b>	<b>8</b>
<b>I. Matériel d'étude :</b>	<b>22</b>
<b>1. Méthodes d'études</b>	<b>22</b>
<b>II. Analyses phytochimiques :</b>	<b>22</b>
1. Extraction liquide/liquide :	23
2. Diagnostic par CCM analytique :	26
3. Les principaux éléments du CCM :	27
4. Visualisation des plaques :	27
5. L'identification :	28
6. Spectrophotométrie UV-Visible :	30
7. Evaluation de l'activité antioxydante par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH).	32
<b>Chapitre VI : Résultats et discussions.</b>	<b>33</b>
<b>I. Résultats de l'aspect qualitatif :</b>	<b>34</b>

1. Diagnostic par chromatographique des composés phénoliques et flavonoïdes :.....	34
2. Analyse spectrale des fractions :.....	37
<b>II. L'activité anti-radicalaire par DPPH :.....</b>	<b>39</b>
<b>Chapitre VII : Relation entre les polyphénols et le diabète.....</b>	<b>33</b>
1. Les polyphénols alimentaires comme un agent antidiabétique :.....	41
2. Mécanisme des polyphénols alimentaires comme un agent antidiabétique :.....	41
3. Relation activité antidiabétique et antioxydante des polyphénols :.....	44
<b>Conclusion et perspectives :.....</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>46</b>
<b>Résumé : .....</b>	<b>48</b>

# **Introduction Générale**

### Introduction générale :

Les maladies chroniques sont considérées comme un problème public à cause de leur taux de morbidité en particulier chez les personnes âgées, les gens qui souffrent de pauvreté, la malnutrition ou qui ont un mode de vie sédentaire. Plus de 190 millions de personnes diabétiques dans le monde (**WHO, 2018**), le diabète une maladie caractérisé par une glycémie à jeun élevée grâce à l'incapacité de l'organisme à produire ou utilisée l'insuline (**Kawai 2011, Benalla 2010**).

Le diabète une maladie chronique, et on distingue le type I et le type 2 ; le premier une maladie auto-immune ou il y a destruction des cellules bêta Langerhans du pancréas. Le deuxième type trouble métabolique cause un problème dans la sécrétion d'insuline, due à une alimentation non équilibrée ou la génétique. Le diabète type 2 (DTII) est la troisième cause mondiale de décès prématurés (**WHO 2018, Griffith 2012**).

Traiter le diabète sans effets secondaires est devenu un défi, les anti-hyper glycémiqes utilisés contre le diabète ont des effets néfastes sur la santé ; maladies gastro-intestinales, insuffisance cardiaque, fractures osseuses (**Griffith, 2012**). La demande en produits à base de plantes naturelles est devenue le but des chercheurs récemment, en raison de leur faible coût, leur grande disponibilité et peu d'effets secondaires (**Banerjee, M., 2020**).

Les plantes médicinales sont traditionnellement utilisées depuis l'Antiquité pour traiter les maladies courantes et les maladies plus graves. Leurs actions proviennent de leurs composés chimiques : métabolites primaires et secondaires (**Liyanagamage, 2020**). La revalorisation de l'herboristerie traditionnelle pourrait aboutir à l'homologation de nouveaux médicaments à base de plantes. La possibilité de concilier le meilleur de chaque discipline, traditionnelle et allopathique, est un grand progrès.

L'Algérie possède une richesse et un trésor inestimables en plantes médicinales, située au cœur de la mer Méditerranée est caractérisée par une très grande variation de reliefs et de climats ; depuis le Tell au Nord, les hauts plateaux pour arriver aux dunes de sables du Sahara situées dans le Sud. Parmi cette végétation, on trouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatization des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales (**Mahfouf Nora, 2018**). Dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques on s'intéressé à la plante de la famille des lamiacées, l'espèce qu'on va étudier : *Origanum vulgare* cultivé dans la région de

## Introduction générale

---

Constantine. **L'origan** une plante aromatique pérenne connues par ses activités antioxydantes, antidiabétiques, antifongiques...

La présente étude s'inscrit dans ce cadre de valoriser les plantes à intérêt thérapeutiques dans l'Algérie et étudier ses biomolécules et leurs activités antioxydantes et ses effets antidiabétiques. Le présent manuscrit est scindé en parties :

### ✚ La première partie : partie bibliographique :

**Chapitre 1** présente des généralités sur *Origanum* : classification systématique, origine, répartition géographique et son intérêt biologique.

**Chapitre 2** la maladie du diabète, les types et le mécanisme.

**Chapitre 3** les antioxydants naturels les polyphénols, classes.

### ✚ La deuxième partie : partie pratique :

**Chapitre 1** : décrire les techniques expérimentales et toutes les techniques et méthodes utilisées pour l'étude biochimique qui comprend les activités d'extraction, de dosage colorimétrique et d'antioxydants

**Chapitre 2** : une étude phytochimique, qui discute des résultats des activités biologiques.

✚ Enfin, une **conclusion** générale et des perspectives de recherche viendront clôturer cette revue.

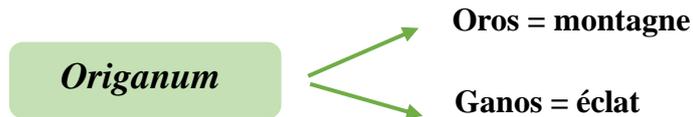
# Chapitre I : L'espèce *Origanum vulgare*.



### I. Généralités sur le genre *Origanum* :

#### 1. Nomenclature :

**Ornement des montagnes** « qui se plaît sur la montagne ». Le terme français apparaît au XIII<sup>e</sup> siècle.



Le terme origan provient du latin *Origanum*, lui-même issu de grec origanon. Le nom *origanum* est improprement utilisé souvent pour nommer d'autres espèces : origan espagnol (*Thymus capitatus*) et l'origan mexicain (*Lippia graveolens*) (**Chalchat, J. 1998**).

#### 2. Description botanique du genre *origanum* :

Ce genre fait partie de la famille des lamiaceae, composée de près de 258 genres et 6970 d'espèces d'herbes. Ce genre comprend de nombreuses espèces, variétés.

Le genre *origanum* comprend de nombreuses espèces, variétés et hybrides qui peuvent être distingué individuellement. Les caractères distinctifs du genre *Origanum* sont d'après (**Ietswaart, 1980**) :

**Les tiges** : les parties inférieures des tiges sont en général ligneuses et persistantes. On trouve plusieurs tiges dressées ou ascendantes portant des branches latérales, de longueur très variable de 10 à 60 cm, la plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces.

**Les feuilles** : sont sessiles ou pétiolées surtout au niveau des nœuds inférieurs, les poils portés par les feuilles et les tiges sont identiques, elles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées, ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles (**CHICKOUNE., 2007**).

Les feuilles peuvent être aussi plus ou moins glabres, dans ce cas elles sont presque toujours glauques car recouvertes par une fine couche de cire.

## Chapitre 1 : *Origanum vulgare*

---

**Les fruits** : sont des akènes ovoïdes, bruns, mesurant 1 à 5 mm de long et 0,5 mm de large **figure 3**. Les caractères fondamentaux du genre *Origanum* résumés ci-dessus présentent le plus souvent des variations caractéristiques de chaque section.

### II. L'espèce *Origanum vulgare* :

L'espèce *Origanum vulgare* L (**figure 1**), communément appelé « zaâter » la plus répandue et la plus connue de la famille des Lamiacées (**Spada et Perrinorr, 1996**).



**Figure 1:** L'espèce *Origanum vulgare* (*Origanum vulgare* — wild marjoram, s. d.).

#### 1. Position systématique :

La classification taxonomique d'après **Deysson 1967 (FIGUEREDO, 2007)** :

**Embranchement** : Spermaphytes

**Sous-embranchement** : Angiospermes

**Classe** : Dicotylédones

**Sous-classe** : Gamopétales

**Série** : Superovariées tétracycliques

**Super ordre** : Tubiflorales

**Ordre** : Lamiales

**Famille** : Lamiaceae

**Sous-famille** : Népétoïdées

**Genre** : *Origanum*

**Espèce** : *Origanum vulgare*

### 2. Description et distribution d'*Origanum vulgare* :

L'origan vulgaire, une herbacée pérenne d'une hauteur de 30 à 60 cm, très répandue, dans les régions secs et ensoleillées, largement présent dans les îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante (**figure 2**) (Ietswaar, 1980). Se croit depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude principalement sur les substrats calcaires. C'est un aromate caractérisé par des fleurs très odorant, reconnue par son odeur et sa saveur épicée qui sa donne une place.



**Figure 2 :** Distribution du genre *Origanum* dans le monde (Ietswaar, 1980).

Les tiges poilus et parfois ils sont glabres, portent des feuilles généralement ovales à pointe émoussé elles sont poilues ou glabres et portent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes (jusqu'à 800 par cm<sup>2</sup>), **figure 3**.



**Figure 3:** Tige et feuilles de l'espèce *O. vulgare* (***Origanum vulgare*** — wild marjoram, s. d.).

## Chapitre 1 : *Origanum vulgare*

---

Les fleurs (**figure 4**), sont groupées en inflorescences en épis, légèrement membraneuses glabre ou parfois pubescente de couleur rouge-violacé ou parfois glauque.



**Figure 4:** Les fleurs d'*Origanum vulgare* (**Origanum vulgare — wild marjoram, s. d.**).

### 3. L'huile essentielle d'*Origanum vulgare* :

Selon les statistiques de l'OMS, 80% de la population utilisent les huiles essentielles pour la thérapie traditionnelle.

Depuis l'antiquité l'HE de l'origan a été utilisé comme : désinfectant ou en traitement des pathologies infectieuses : infections urinaires et génitales, les diarrhées et les infections cutanées. Le mode d'utilisation est par voie cutanée (**Mahfouf N, et al., 2018**).

Beaucoup d'étude s'intéressent aux activités biologiques l'huile d'origan : activité antioxydante, antifongiques, antibactérienne...etc. La composition de l'HE d'origan se diffère d'une région à une autre et donc les niveaux de composés phénoliques composés dans ces extraits (**Béjaoui, A et al., 2013**).

# **Chapitre II :**

## **Le stress oxydatif.**

### I. Le stress oxydatif :

L'utilisation du terme en 1970 en chimie, quand les cellules ont soumis à un stress oxydatif (SO), l'addition de H<sub>2</sub>O aux cellules érythrocytes. Depuis 1985, le terme désigne les dommages oxydatifs aux cellules et aux organes. Le concept a été mettre à jour, le SO est défini comme une perturbation d'équilibre peroxydant-antioxydants (Sies, H, 2017).

### II. Les ROS espèces réactives de l'oxygène et leur origine :

ROS les espèces réactifs d'oxygène, plupart de ces substances formées lors de la phosphorylation oxydative de la chaîne respiratoire dans les mitochondries. Cette chaîne métabolique joue un rôle vital dans les cellules et responsable de transformer l'oxygène en deux molécules d'eau et parce que la chaîne n'est pas parfaite, environ 0,4% à 4% de l'oxygène n'est pas correctement converti en eau, Ce qui génère des radicaux libres ou ROS. Certains des produits de réduction de l'oxygène sont de nature radicalaire, ayant un électron libre (par exemple, le radical anion superoxyde et le radical hydroxyle radical). Les radicaux libres sont des molécules qui ne sont pas complètement oxydées et qui ont qu'un seul électron célibataire,, alors que le peroxyde d'hydrogène, le produit de réduction à deux électrons, n'est pas un radical et comme telle est une molécule chimiquement stable, le terme ROS doit être remplacé par le nom du produit chimique spécifique (Sies, H, 2017).

**Tableau 1:** ROS : diversité et nature chimique (Sies, H, 2017).

Radicaux libres	Non radicaux
<b><i>Reactive oxygen species</i></b>	
Superoxide anion radical (O <sub>2</sub> <sup>-•</sup> ) Hydroxyl radical (OH•) Peroxyl radical (ROO•) Alkoxy radical (RO•)	Hydrogen peroxide (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Organic hydroperoxide (ROOH) Singlet molecular oxygen (O <sub>2</sub> Δ g) Electronically excited carbonyls (RCO) <sub>a</sub> Ozone (O <sub>3</sub> )
<b><i>Reactive chlorine/bromine species</i></b>	
Atomic chlorine (Cl•) Atomic bromine (Br•)	Hypochlorite (OCl <sup>-</sup> ) Chloramines (RNHCl) Hypobromite (OBr <sup>-</sup> )
<b><i>Reactive nitrogen species</i></b>	
Nitric oxide = nitrogen monoxide (NO•) Nitrogen dioxide (NO <sub>2</sub> •)	Nitrite (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) Nitroxyl anion (NO <sup>-</sup> )

## Chapitre 2 : Le stress oxydatif

<b>Reactive sulfur species</b>	
Thiyl radical (RS•)	Thiol (RSH), thiolate (RS <sup>-</sup> )
<b>Reactive selenium species</b>	Selenite Selenate Selenocysteine
<b>Reactive carbonyl species</b>	Acetaldehyde Acrolein Methylglyoxal

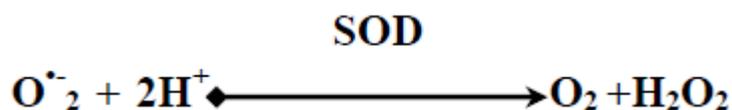
Tous les radicaux oxygénés sont des espèces réactives de l'oxygène ROS, mais toutes les espèces réactives de l'oxygène ne sont pas des radicaux oxygénés. En fait, la plupart des espèces réactives de l'oxygène ne sont pas libres radicaux (Sies, H, 2017).

**Les phagocytes :** Les macrophages phagocytent les bactéries et les parasites ce qui permet la production de ROS appelée explosion respiratoire, **l'environnement** aussi libère des ROS : fumée de tabac, l'alcool ou même certains médicaments (Xénobiotiques) peuvent être une source de radicaux libres par oxydations de ces composés au niveau du cytochrome P450 (Favier, 2003).

### III. Les défenses antioxydantes :

#### 1. Superoxyde dismutase SOD :

La 1<sup>ère</sup> ligne qui protège l'organisme contre les ROS, il existe 3 types selon la localisation : SOD extracellulaire, SOD cytoplasmique et la dernière mitochondriale ; catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène, empêchant ainsi la coexistence de ces deux espèces radicalaires (Haleng J. et al., 2007).



#### 2. La catalase :

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intracellulaire formé par la réaction du SOD est toxique pour la cellule, il est donc éliminé par la catalase par la réaction suivante :



### 3. Glutathion peroxydase (GPxs) :

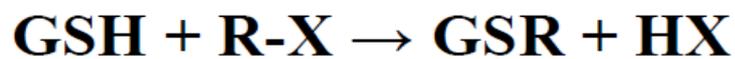
Le stress oxydatif endommage les lipides les acides gras polyinsaturés en peroxydes lipidiques, ces derniers seront réduites par la GPxs, il existe 5 types : La GPx 1 cytoplasmique et mitochondriale, La GPx2 gastro-intestinale, La GPx3 et la GPx4 plasmique, et la GPx5 épидidymaire (Marhoune. N, et al., 2017).

### 4. Le système thiorédoxines :

Dans la cellule le milieu est réducteur, la thiorédoxine réduit les protéines portant des groupements thiols libres et des ponts disulfures (Marhoune, N et al, 2017).

### 5. Glutathion S peroxydase GST :

Présentes chez tous les organismes, la glutathion-S-transférase (GST) est un système très important dans la protection cellulaire contre les ROS, grâce à sa capacité à lier le glutathion aux composés électrophiles et la réduction des et des peroxydes (Marhoune, N et al, 2017).



# **Chapitre III :**

## **Les composés**

### **phénoliques.**

## I. Les composés phénoliques :

Les polyphénols sont des composés naturels synthétisés exclusivement par les plantes, avec des caractéristiques chimiques liées aux substances phénoliques et de fortes propriétés antioxydantes. Ces molécules ou classes de substances sont principalement présentes dans les fruits, les légumes, le thé vert et les grains entiers.

Les polyphénols sont un groupe bien connu de systèmes phénoliques caractérisés par au moins deux cycles phényle et un ou plusieurs substituants hydroxyle cette description comprend un grand nombre de composés hétérogènes en référence à leur complexité, voir **Tableau 2**.

**Tableau 2:** Les différentes classes de polyphénols (Merghem, 2009).

Nombre de C	Classe	Exemples/origine
$C_6$	Phénols simples	Hydroquinine, catechol
$C_6-C_1$	Acides phénols	Acide salicylique, acide <i>p</i> (OH) benzoïque
$C_6-C_3$	Acide cinnamique Coumarines Phénylpropènes	Acide caféïque, férulique (Café, pomme) Esculétine, scopolétine (Citron) Eugénol (Giroflier)
$(C_6-C_3)_2$	Lignane	Pinorésinol (Pin)
$(C_6-C_3)_n$	Lignines	Bois, noyau des fruits.
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes Isoflavonoïdes Anthocyanes	Apigénine, lutéoline, quercétine (fruits) Génistéine (Soja, pois) Pélagonidine, cyanidine et delphinidine (Fleurs, fruits rouges)
$(C_6-C_3-C_6)_2$	biflavonoïdes	Amentoflavone
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Proanthocyanes (tanins)	, Procyanidines, Prodelphinidines (Raisin rouge)

## II. Voies de biosynthèse des polyphénols :

## Chapitre 3 : les composés phénoliques.

---

Les polyphénols sont des métabolites secondaires formés par les plantes, à base de noyau aromatique, la biogénèse du noyau aromatique ce qui nécessite des acides aminés aromatique, et se fait par 2 voies : voie de l'acide shikimique et voie de l'acétate malonate, dont chacune aboutit à la formation des composés différents (Merghem, 2009).

- **Voie de l'acide shikimique** : formation de l'acide shikimique qui se condense avec PEP, après multiple réactions et molécules intermédiaires ; formation des acides aminés aromatiques Tyr et Phe par des réactions de transamination et de désamination à partir d'acide préphénique, et finalement donne le résultat des acides cinnamique et leurs dérivés ; acide benzoïque ou des polyphénols simples (Merghem, 2009).

- **Voie de l'acétate malonate : condensation des groupements acétate** aboutit à la fin des poly-acétates, qui vont être cyclés et donne naissance à de nouveaux composés cycliques. Ces deux voies participent à la diversité d'origine et la complexité des composés phénoliques, et si les 2 voies se mélangent donne naissance à ce qu'on appelle : les **flavonoïdes** (Martin S.,Andrantsitohaina R., 2002).

### III. Les principales classes des polyphénols :

#### 1. Les acides phénoliques :

Acide phénol revient à tous les composés organiques qui ont une fonction phénolique liée à une fonction carboxylique, plus spécifiquement ils sont les dérivés de l'acide cinnamiques et de l'acide benzoïque. Ils ont un rôle important dans la réparation par lignification de la plante ; des tissus endommagés par l'attaque des ravageurs (Manach et al., 2004).

L'**acide benzoïque et ses dérivés** dont la structure de base (C3-C1) issues de la voie de shikimate, provient de l'acide benzoïque (**Figure 05**), cependant, ces dérivés sont très rares dans l'alimentation humaine, acides hydroxycinnamiques tels que les acides p-coumarique, férulique et sinapique, les structures sont représenter (Macheix J.J. et al., 2006).

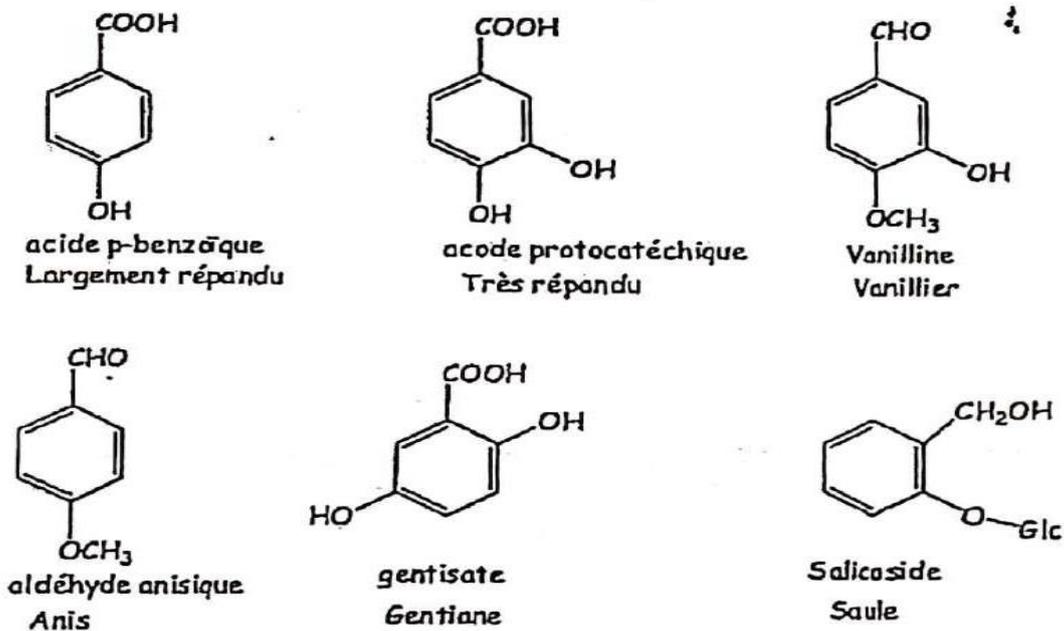


Figure 5: Quelques exemples d'acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1) (Merghem, 2009).

Les acides hydroxycinnamiques dont la structure (C6-C3) (Figure 06), dérivées de l'acide cinnamique, le nombre de fonction hydroxyle est différent d'une molécule à une autre, avec l'intervention des méthylations sur les fonctions OH, ce qui donne la spécificité et l'efficacité de réaction (Macheix J.J. et al., 2006).

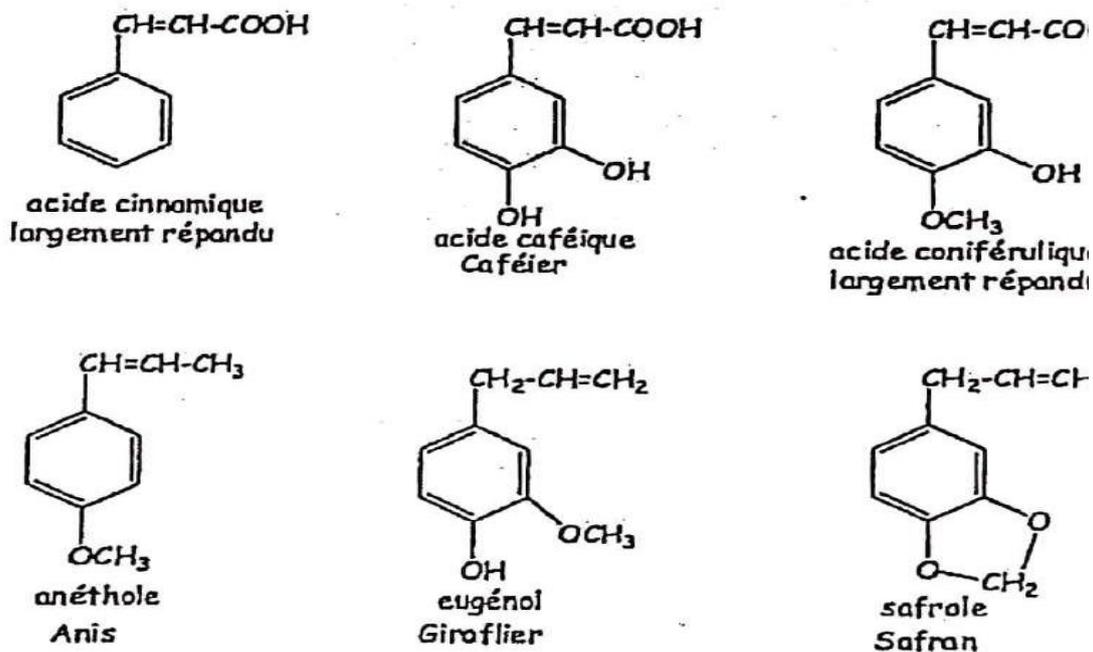


Figure 6: La structure des C6-C3 dérivés de l'acide cinnamique (Merghem, 2009).

### 2. Les coumarines :

La cyclisation d'hydroxy cinnamique conduit à la formation des coumarines, la 1<sup>ère</sup> coumarine a été découverte dans la fève de tonka (*Coumarina odorata*) (Merghem, 2009).

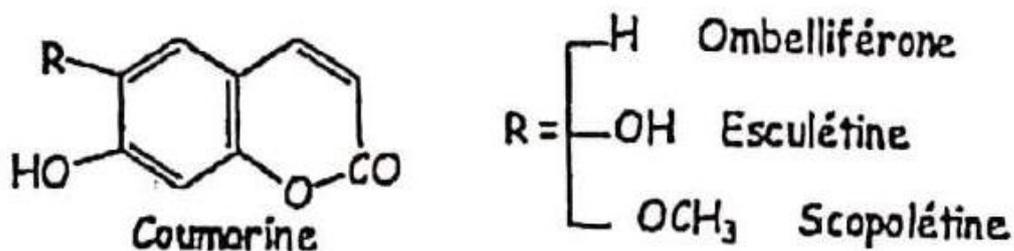


Figure 7: Structure des coumarines (Merghem, 2009).

### 3. Les lignanes :

Formés par la dimérisation des composés (C6-C3), par une liaison C-C (Merghem, 2009). Elles s'accumulent dans les tissus ligneux, les graines et les racines des végétaux supérieurs. Ces biomolécules très bénéfique pour la plante (défense) ou même pour l'homme ; des études ont démontrés que quand les lignanes de lin (*linum usitatissimum*) digérés par la flore bactérienne de l'intestin, ils offrent une prévention contre certains cancers, notamment les hormonaux-dépendants (sein et prostate) en raison de leur ressemblance au Œstradiol voir Figure 8 (Lambli et al, 2008)

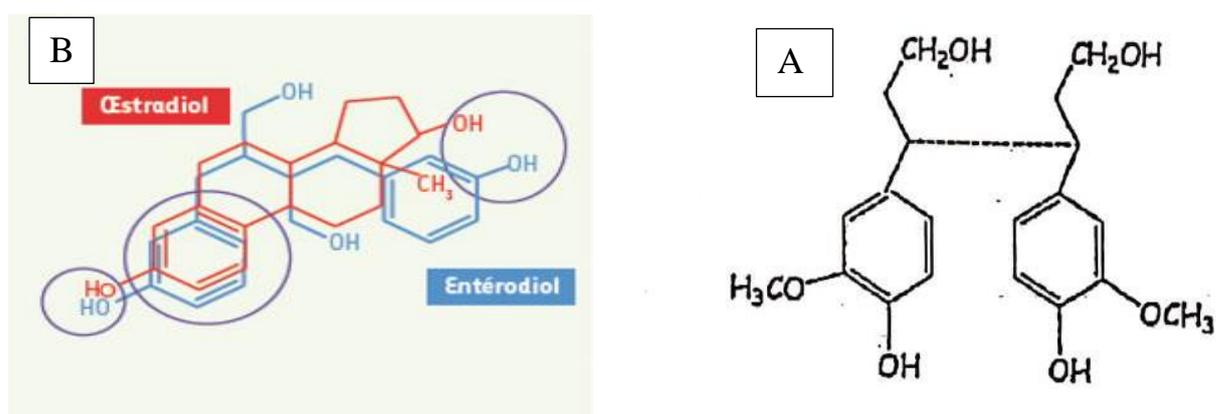
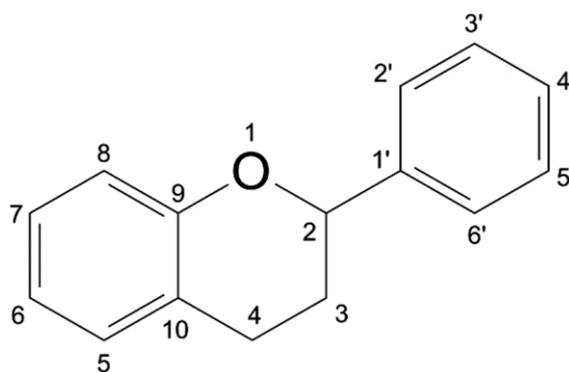


Figure 8: (A) structure d'une lignane (Merghem, 2009), (B) ressemblance entre la lignine de lin et l'œstradiol (Lambli et al, 2008).

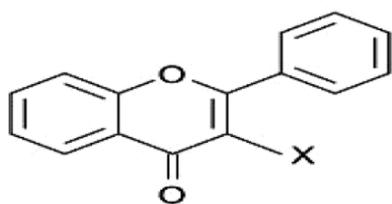
### 4. Les flavonoïdes :

Le nom flavonoïdes vient de « flavus » qui signifie jaune en latin (**Prochazkova D.et al., 2011**). Albert Szent-Gyorgyiun chercheur qui a reçoit le prix reçoit le prix Nobel de physiologie et de médecine, ses recherches sur la combustion biologique, notamment l'oxydation de la vitamine C et il a découvert une classe de polyphénols qui interviennent dans ce processus. Il a trouvé ces molécules en grande quantité dans le paprika et il étudié leurs propriétés biologiques, et il a montré que certains groupes de flavonoïdes ont des propriétés rassemblent aux vitamines et ils les appellent « vitamines P » (**Rusznayak I.; Szent-Gyorgyi A., 1936**), mais cette nomination a été remplacé car ils ne sont pas des vitamines.



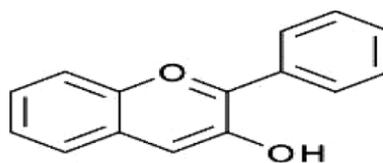
**Figure 9:** Structure générale d'un flavonoïde (**Singla, R. et al., 2019**).

Les flavonoïdes ont une structure de base (C6-C3-C6) voir **Figure 10** ; on remarque une diversité de structures qui provient des variations d'oxydation et d'hydroxylation du cycle pyranne, qui résulte un groupe de composés : flavanols, anthocyanes, anthocyanidines, isoflavones, flavonols, flavanones et flavanonols, quelques-unes de ces structures sont illustrés dans la **figure 10**.

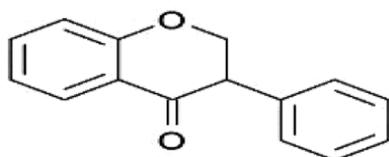


Flavonols (X = OH)

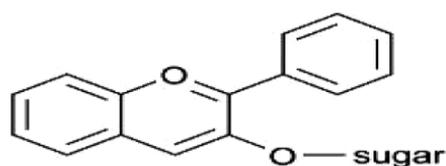
Flavones (X = H)



Anthocyanidins



Isoflavones



Anthocyanins

**Figure 10:** les différentes classes de flavonoïdes (Singla, R. et al., 2019).

# **Chapitre IV :**

## **Le diabète.**

## Chapitre 4 : Le diabète.

---

Le diabète une maladie chronique, qui a connu une évolution en double dernièrement dans les pays en développement, en fait le diabète type 2 est la 3<sup>ème</sup> cause de décès prématuré mondiale. C'est une pathologie métabolique, due à des phénomènes en abondance à l'intérieure et à l'extérieur de l'organisme.

### I. Définition du diabète:

Le diabète est connue depuis l'antiquité une maladie chronique caractérisé par une hyperglycémie car l'organisme est incapable à synthétiser ou à utiliser l'insuline, beaucoup définition ont été proposé mais l'un des définitions les plus connes est celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) :

*« Non traité, le diabète sucré se caractérise par une élévation permanente de la teneur du sang en glucose (hyperglycémie), parfois accompagnée par des symptômes tels qu'une soif intense, des mictions fréquentes, une perte de poids et une torpeur qui peut aller jusqu'au coma et à la mort en l'absence de traitement. Plus souvent, les symptômes révélateurs sont beaucoup moins nets ; il n'y a pas d'altération de la conscience ; parfois il n'en existe aucun. La teneur élevée du glucose dans le sang et les autres anomalies biochimiques résultent d'une insuffisance de production ou d'action de l'insuline, hormone qui contrôle le métabolisme du glucose, des graisses et des lipides. Divers processus étiologiques peuvent être en cause. La gravité des symptômes est surtout déterminée par le degré d'insuffisance ou d'action de l'insuline. De façon générale, le diabétique court un risque, à long terme, d'être atteint de lésions progressives de la rétine, des reins, des nerfs périphériques, d'une athérosclérose grave du cœur, des membres inférieurs et du cerveau » (Sahnine, N.et al, 2018).*

### II. Les différents types de diabète :

Il existe plusieurs types de diabète classés en fonction des causes qui entraine ce déséquilibre de la glycémie. La classification proposée par OMS est dans le **Tableau 3**, tous les types de diabètes sucrés sont mentionnés, même les diabètes secondaires liés à certaines autres affections responsables de la carence en insuline.

**Tableau 3:** Les types de diabète sucré (Sahnine, N.et al, 2018).

<b>Diabète sucré</b>
Diabète insulino-dépendant (DID) type 1
Diabète non insulino-dépendant (DNID) type 2 <input type="checkbox"/> Sujet non obèse <input type="checkbox"/> Sujet obese
Diabète sucré lié aux malnutritions Autre type diabète associés à certaines maladies et syndromes : <input type="checkbox"/> Affection pancréatique <input type="checkbox"/> Affection endocrinienne : affection de cause médicamenteuse ou chimique <input type="checkbox"/> Anomalie de l'insuline ou de ses récepteurs <input type="checkbox"/> Certains syndromes génétiques <input type="checkbox"/> Diverses autres affections
<b>Intolérance au glucose</b>
<input type="checkbox"/> Sujet non obèse <input type="checkbox"/> Sujet obese, association à certaines maladies et syndromes
<b>Diabète gestationnel</b>
<input type="checkbox"/> <b>Groupe à risque statistique</b>  (sujet avec tolérance au glucose normal, mais risque accru de devenir diabétique)  <input type="checkbox"/> Anomalie préalable de la tolérance au glucose <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Anomalie potentielle de la tolérance au glucose

Les types les plus fréquents sont diabète type 1 (DID) diabète insulino-dépendant et le diabète type 2 non insulino-dépendant (DNID), et s'ajoute un type qui est un facteur de risque du diabète type 2 : le diabète gestationnel (**Sahnine, N.et al, 2018**).

### 1. Diabète type 1 :

Une maladie auto-immune, anciennement appelé diabète insulino-dépendant, dont il y a une destruction des cellules bêta du pancréas qui produisent l'insuline, ce qui résulte un dérèglement de la concentration du glucose dans le sang. Il touche le plus souvent l'enfant et l'adulte jeune de moins de 35 ans et aussi touche le sujet le plus âgé.

## Chapitre 4 : Le diabète.

---

DNID Comme son nom l'indique, un sujet atteint de ce type devient insulino-dépendant car l'organisme n'est plus capable de le fabriquer ; il doit s'injecter la dose prescrite par le médecin, le régime alimentaire est nécessaire aussi mais n'est pas suffisant sans injection d'insuline (Sahnine, N.et al, 2018).

### 2. Le diabète de type2 :

Autrefois appelé diabète non insulino-dépendant (DNID), avec le style moderne et la technologie qui favorisent la sédentarité et l'alimentation non équilibré devient le type le plus fréquent. Dans ce cas, des anomalies dans la sécrétion d'insuline. Il est présent dans les personnes âgées, ou qui ont un mode de vie non équilibré et sédentaire (Grifith, 2012).

### 3. La différence entre diabète 1 et 2 :

Les différentes caractéristiques qui nous permettent de distinguer le diabète type 1 du type 2 sont résumées dans le **Tableau 4** :

**Tableau 4:** Caractéristiques des diabètes de type 1 et de type 2 (Sahnine, N.et al, 2018).

<b>Tableau 02 : Caractéristiques des diabètes de type 1 et de type 2. Type de diabète</b>	<b>D.I.D (Type1)</b>	<b>D.N.I.D (Type 2)</b>
<b>Fréquence</b>	15%	85%
<b>Age de début</b>	< 20 ans	> 35 ans
<b>Facteur héréditaire</b>	Faible	Fort
<b>Obésité</b>	Non	Oui
<b>Signes auto-immune</b>	Oui	Non
<b>Insulino-sécrétion</b>	Nulle	Carence relative
<b>Insulino-résistance</b>	Non	Oui

### 4. Diabète gestationnel :

Ce type affecte environ 6% des femmes enceintes. L'hyperglycémie survient au cours des premiers mois de la grossesse en raison de problèmes de tolérance au glucose. En général, la glycémie revient à la normale après l'accouchement, mais c'est un facteur de risque de diabète de type 2 chez la femme mais pas chez l'enfant (**Sahnine, N.et al, 2018**).

### III. Les causes de diabète :

Les facteurs de risque se diffèrent, environnementaux, génétique ou due à d'autres maladies sont résumées dans le **Tableau 5**

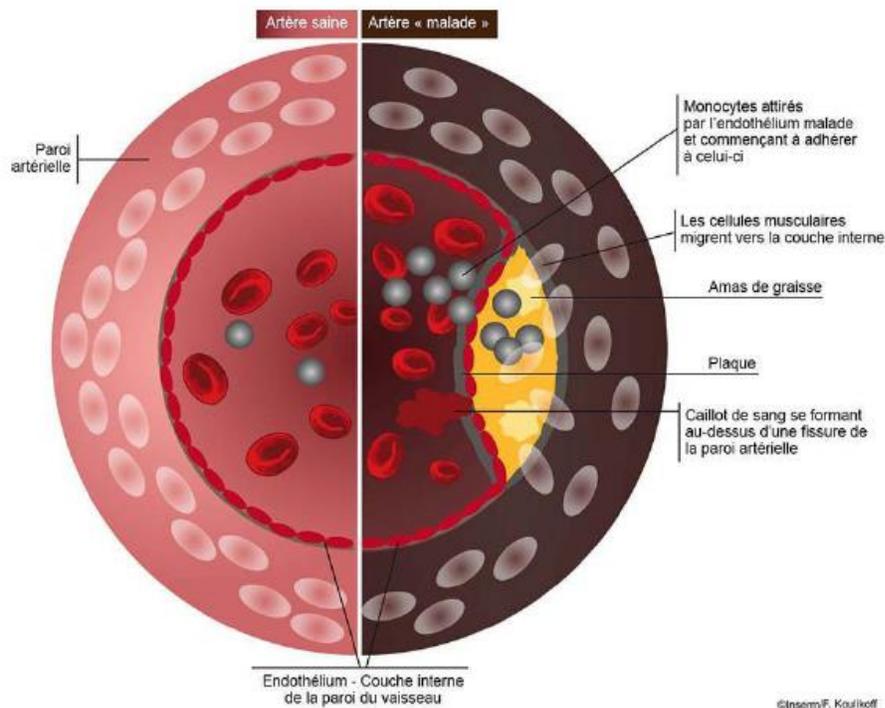
**Tableau 5:** les différentes causes du diabète (**Sahnine, N.et al, 2018**).

<b>DT1</b>	<b>DT2</b>
<p>Les cellules de l'organisme sont progressivement détruites par l'organisme, 2 facteurs sont impliqués</p> <p>✓ <b>Facteurs génétiques :</b> l'existence des facteurs génétiques favorisent l'apparition de ce type, aussi si les parents ont le DT1 ca augmente la possibilité.</p> <p>✓ <b>Facteurs environnementaux :</b> sont variés, une infection virale ou bactérienne perturbent le système immunitaire destructif, aussi le stress psychologique, l'alimentation et d'autres maladies indirectes peuvent le causer.</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Syndrome métabolique</li><li>✓ Résistance à l'insuline</li><li>✓ L'obésité</li><li>✓ Age plus de 45 ans</li><li>✓ Antécédents familiaux forts</li><li>✓ Le syndrome des ovaires poly kystique</li><li>✓ Des antécédents d'un diabète gestationnel</li><li>✓ L'accouchement d'un bébé d'un poids élevé.</li><li>✓ L'usage de certains médicaments.</li></ul>

#### IV. Les complications du diabète :

Quel que soit le type de diabète tous les organes peuvent être endommagés raison de l'hyperglycémie qui fragilise les parois des vaisseaux sanguins **Figure 11**.

**Les maladies cardiovasculaires (MCV)** l'hyperglycémie cause la coagulation sanguine ; risque d'infarctus de myocarde ou AVC (accident vasculaire cérébrale).



**Figure 11:** Coupe schématique d'une artère saine et d'une artère artérioscléreuse : place de l'endothélium vasculaire (**Guérin-Dubourg, A**).

**La néphropathie :** une détérioration progressive du rein peut s'installer après l'effet des troubles vasculaires rénaux jusqu'à une insuffisance rénale.

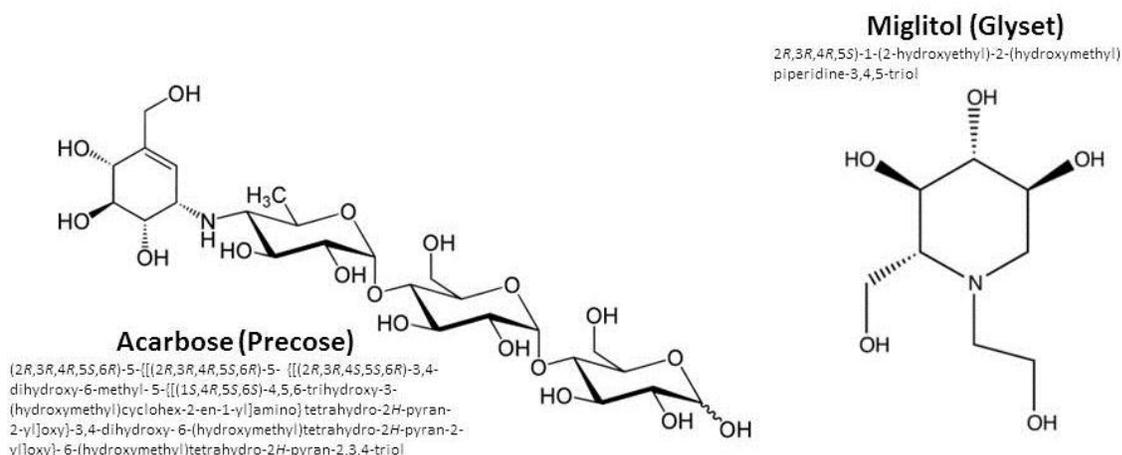
**Les troubles oculaires :** peut causer détérioration progressive de la vision.

**Sensibilité aux infections :** les diabétiques ont le risque d'avoir une infection de la peau, des gencives, des voies respiratoires. Les infections aux pieds sont les plus fréquentes et peut arriver jusqu'à l'amputation des pieds (gangrène) (**Guérin-Dubourg, A**).

### V. Les antidiabétiques et leurs effets secondaires :

La thérapie se concentre sur le contrôle d'hyperglycémie, en ciblant différents organes qui entrent dans le métabolisme du glucose comme une solution au traitement du diabète. Les sulfonyleures et meglitinides efficace mais il y a le risque d'hypoglycémie en comparaison à d'autres traitement, un autre traitement est aussi efficace ; les thiozolidinediones pour augmenter la sensibilité du gras et du muscle à l'insuline, mais à risque d'insuffisance cardiaque. La metformine la plus utilisée contre le DT2, fait partie de la classe des bigunides initier une cascade de réaction qui bloque la libération du glucose par le foie et maintien le taux du glucose sanguin, les effets secondaires gastro-intestinaux indésirables et aussi ca nécessite l'insuline (**Griffith, 2012**).

Une autre méthode a été la solution est de limiter le taux de glucose sanguin par des inhibiteurs d'enzymes clés du métabolisme des hydrates de carbones : alpha glucosidase et alpha amylases, deux inhibiteurs ont été testés qui sont : Acarbose et Miglitol (**Figure 12**) aussi comme les autres ont des effets gastro-intestinaux, douleurs abdominales. De plus, il a été découvert que les flavonoïdes (flavan-3-ols) inhibent spécifiquement de manière compétitive la digestion des oligosaccharides duodénaux par l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase (**Ryu 2010**).



**Figure 12:** Structures des Acarbose et Miglitol (**Griffith, 2012**).

# **Chapitre V :**

# **Matériels et**

# **méthodes.**

## Chapitre 5 : Matériel et méthodes.

---

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique des d'*Origanum vulgare* par l'étude qualitative (CCM, spectrophotométrie) et en déterminant le pouvoir antioxydante des biomolécules.

Cette partie a été faite dans le Laboratoire de valorisation et de développement des ressources phytogénétiques, équipe phytochimie.

### I. Matériel d'étude :

#### 1. Méthodes d'études

##### ✿ Matériel végétal :

La plante *Origanum vulgare* ; l'origan qui fait l'objet de notre étude biochimique, a été acheté fraîchement cueillit dans la région de Ferjioua.



Figure 13: *Origanum vulgare*.

##### ✿ Réactifs et appareillage

Les produits chimiques et les appareils utilisés sont reportés en annexes.

### II. Analyses phytochimiques :

☼ **Séchage** : après laisser la plante sécher, elle a été débarrassé et lavé abondamment avec de l'eau de robinet afin d'éliminer toutes les impuretés.

☼ **Extraction par macération à froid** :

L'intérêt de cette méthode est de conserver tous les métabolites secondaires surtout les thermofragiles, en plus d'être économique sur le plan énergétique.

- 10g de feuilles d'origan sec ont été broyées finement dans un mortier par le pilon, en ajoutant 500 ml d'une solution alcoolique (Méthanol/ eau ; 70/30) **Figure 14**.
- Le tout est bien agité et laissé à l'air libre, à une température ambiante pendant 24h.
- Après recueillir et filtrer l'extrait, il est évaporé et concentré dans évaporateur rotatif à 60°C.



**Figure 14:** L'extrait méthanolique d'origan.

### 1. Extraction liquide/liquide :

La partition entre solvant est une étape primordiale, pour en éliminer les composés non phénoliques et séparer les composés phénoliques, selon leur structure et leur polarisation, en allant du solvant le moins au plus polaire pour ne pas. Pour cela on utilise une ampoule à décanter (**Figure 15**).

### ⚙️ Affrontement par éther du pétrole :

- 100 ml d'extrait d'origan est versé dans l'ampoule à décanter.
  - 100 ml d'éther de pétrole sont ajoutés, et laissés reposés pendant 20 min jusqu'à obtenir deux phase :
- ✓ Une phase supérieur : la phase organique/ phase d'éther de pétrole qui contient les lipides, chlorophylle, l'éther de pétrole un solvant apolaire, il est solubilisé dans les composés lipophiles.
  - ✓ Une phase intérieure : la phase aqueuse qui contient les polyphénols.
  - ✓ Le processus est répété 3 fois.
- La phase aqueuse est récupérée alors que la phase de pétrole est rejetée.



**Figure 15:** Affrontement par les solvants dans l'ampoule à décanter.

### ☼ **Affrontement par éther di-éthylique :**

Cette étape permet d'isoler les composés phénoliques simples (acides phénoliques) et des aglycones. La phase aqueuse obtenue lors de l'affrontement par éther de pétrole subit un affrontement par éther di-éthylique et on obtient :

- ✓ Une phase aqueuse et une phase organique en haut qui contient des polyphénols simples récupérée dans un bécher.

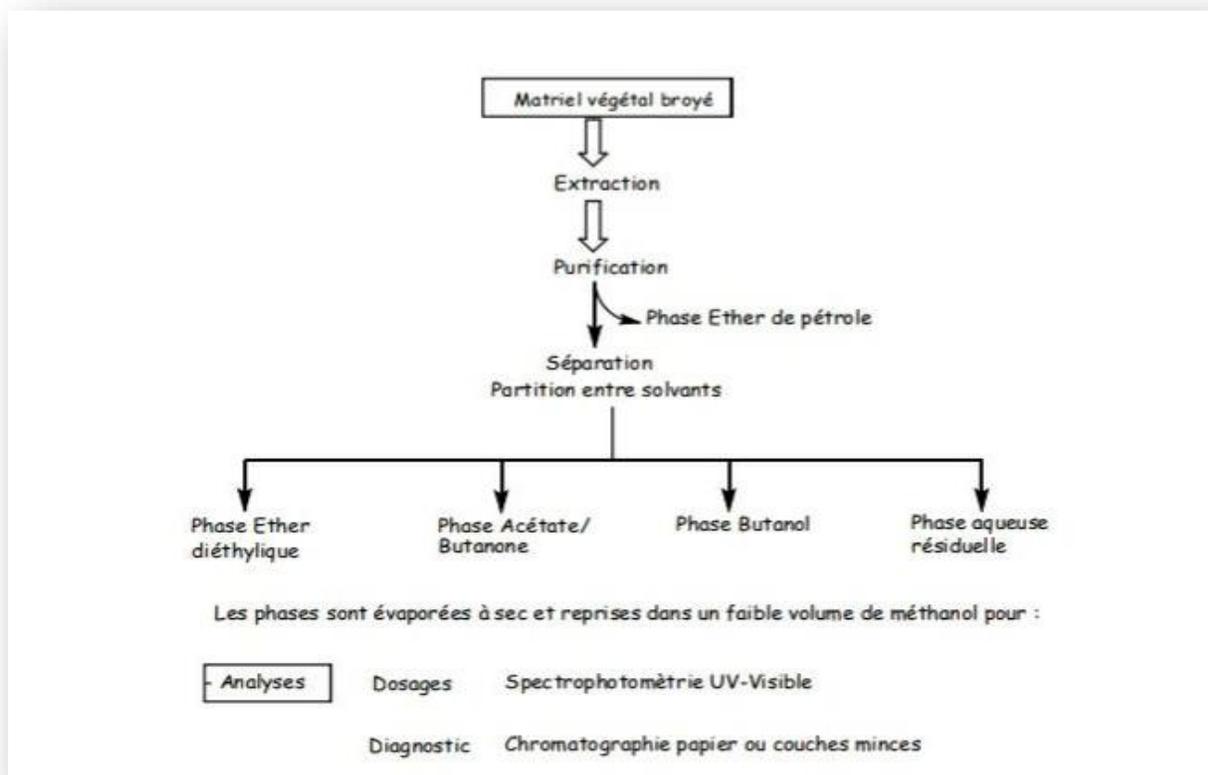
### ☼ **Affrontement par acétate d'éthyle :**

Le même protocole précédent est appliqué, dans ce cas l'affrontement est par l'acétate d'éthyle sur la phase aqueuse obtenue par acétate de pétrole, la phase organique est récupérée, contient les mono glycosides et quelque di-glycosides.

### ☼ **Affrontement par méthyl-éthyle cétone (MEC) :**

En suivant les mêmes étapes précédentes et on obtient une phase organique qui contient les di-glycosides et tri-glycosides, voir le protocole (**Figure 16**).

Les phases récupérés ont été concentrés dans l'évaporateur rotatif après 3 ml de méthanol ont été ajoutés, sauf la phase d'éther di-éthylique a été séché à l'air libre.



**Figure 16:** Schéma récapitulatif d'extraction et d'analyse des polyphénols (Merghem, 2009).

### 2. Diagnostic par CCM analytique :

#### 🌸 Principe :

La chromatographie est une méthode fréquente en biochimie, à fin de séparer les molécules d'un mélange. Le principe de la CCM est simple, elle est basée sur la séparation sélective des composants entre 2 phases : une phase stationnaire et l'autre mobile, par le phénomène d'adsorption en fonction de :

- de la nature de la phase mobile.
- de la nature de la phase stationnaire.
- des propriétés physico-chimiques des constituants à séparer.

Dans ce travail, le but de la CCM est de séparer et mettre en évidence les composés phénoliques et flavonoïdes présents dans l'extrait d'origan.

### ⚙ Mode opératoire :

### 3. Les principaux éléments du CCM :

- **Cuve à chromatographie** : Un récipient en verre fermé par un couvercle étanche.
- **Phase stationnaire** : pour la CCM des flavonoïdes, on utilise un gel polyamide D6.
- **Phase mobile (éluant ou système solvant)** : Plusieurs systèmes solvants ont été essayés, le système solvant choisi est celle qui permet une meilleure séparation.

#### 1. Le dépôt :

Le protocole de cette manipulation et le suivant :

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie
- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant).Le dépôt est fait par une pipette capillaire à usage unique pour chaque phase, elle doit être perpendiculaire par rapport à la plaque.
- Effectuer plusieurs dépôts au même point pour avoir une quantité suffisante à séparer, en séchant rapidement après chaque dépôt.
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant.
- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme.
- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm supérieur de l'extrémité.
- Sécher le chromatogramme à l'air libre.

Dans tous les cas, les positions des taches (spots) colorées doivent être notées en les cerclant juste à la fin de la chromatographie car certains produits disparaissent avec le temps.

### 4. Visualisation des plaques :

- A l'œil nu.
- **Révélation physique** : sous une lampe 365nm, les produits qui absorbent les UV apparaissent colorés
- Les flavonoïdes apparaissent sous forme des taches fluorescentes, en fonction de la couleur, le type est connu :

## Chapitre 5 : Matériel et méthodes.

---

Les dérivés d'**Apigénine** apparaissent par une couleur jaune verdâtre sous UV, après 24h leur couleur devient rouge-brun.

Les dérivés de **lutéoline** présentent une couleur fluorescente jaune sous UV.

Les dérivés de **Kaempférol** ont une couleur jaune verdâtre sous UV, la couleur est plus intense que celle des dérivés Apigénine.

Les dérivés de **quercétol** présentent une couleur fluorescente orange intense sous UV.

### 5. L'identification :

Ils existent plusieurs méthodes pour d'identification des polyphénols et notamment les flavonoïdes, parmi ces méthodes :

#### ☛ Fluorescence sous lumière UV :

En effet, il existe une relation étroite entre la fluorescence de la molécule, et sa nature. Le tableau si dessous résume la relation entre les couleurs des taches des flavonoïdes et leur structure et donc leur type.

**Tableau 6:** Relation entre la fluorescence du spot et la structure des flavonoïdes (Lahoual, 2005).

<i>Couleur des spots des flavonoïdes</i>	<i>Types de flavonoïdes</i>
Noir	flavonols 5.6.7 tri-OH libres
	flavonols 5.7.8 tri-OH libres
Brun noir	3-OH absent ou 3-OH substitué
violet	Flavones 5-OH et 4'OH
	Flavones 3-OR et 5-OH 4'OH
	Flavonnes ou flavonols 5-OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3
	Flavones-6 ou 8-OH
Bleu clair (fluorescent)	Chalcone, isoflavones, dihydroflavonols, flavonones
	Flavones sans 5-OH libres
Jaune terne, jaune orangé	Flavones sans 5-OH libres avec 3-OH substitué
	Flavonols 3-OH libres avec ou sans 5-OH substitué
Jaune vert brillant	5-OH libre ou sans 5-OH substitué
Jaune fluorescent	Flavonols avec 3-OH libre
Jaune pale	Dihydroflavonols

❁ **Facteur de rétention :**

Enfin calculer le rapport frontal (Rf) pour chaque spot par la relation suivante :

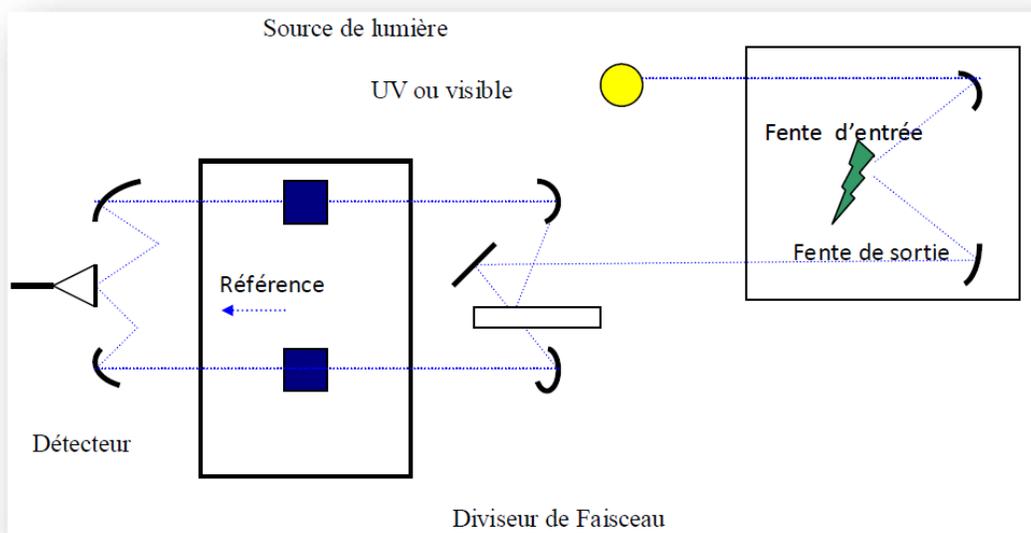
$$Rf = \frac{\text{distance parcourue par le composé}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$

## 6. Spectrophotométrie UV-Visible :

La spectrophotométrie UV-Visible est l'une des techniques plus utilisées employée en analyse biochimie. Il s'agit de mesurer la quantité de rayonnement ultraviolet ou visible absorbée par une substance en solution. C'est une technique analytique fondée sur l'étude du changement de l'intensité de la lumière traversant une solution colorée, dans un domaine d'application comprise entre 200 et 800 nm, en effet pour pouvoir déterminer les concentrations des substances absorbantes. Elle est utilisée aussi bien pour l'analyse qualitative que quantitative (**Bouhelassa. M, 2018**).

### ❁ Principe :

Un spectrophotomètre est un appareil utilisé pour mesurer l'absorbance d'une solution à différentes longueurs d'onde. Pour ce faire, il fait passer un rayon de la lumière de longueurs d'onde choisies à travers une cuve contenant la solution à étudier, Les molécules de la solution absorbent plus ou moins la lumière, on définit alors l'absorbance pour cette longueur d'onde (**Figure 17**).



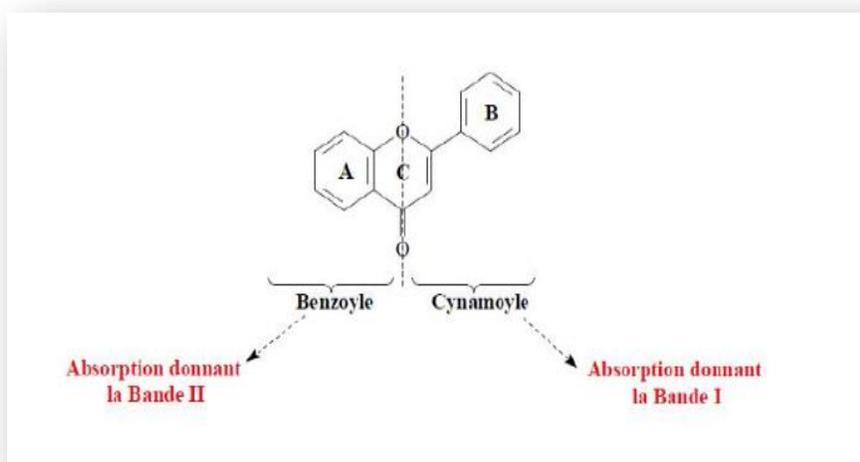
**Figure 17:** Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau (**Bouhelassa. M, 2018**).

## Chapitre 5 : Matériel et méthodes.

---

Les flavonoïdes peuvent être considérés comme des pigments qui absorbent fortement le rayonnement UV. Les flavones et flavonols sont caractérisés en majorité par deux bandes d'absorption majeures dans la région UV-Visible. Dans le méthanol neutre, les flavonoïdes absorbent en 2 régions différentes du spectre UV, entre la Bande I et la Bande 2 (**Lahouel M, 2004**) :

- **La Bande I** : Abs max entre 300-385 nm : absorption cinnamoyle.
- **La Bande II** : est associée à l'absorption du système benzoyle du noyau, et connaitre le nombre de substituants du noyau abs entre 250 et 280nm.



**Figure 18:** Spectre d'absorption d'un flavonoïde (*Khelfllah A, 2013*).

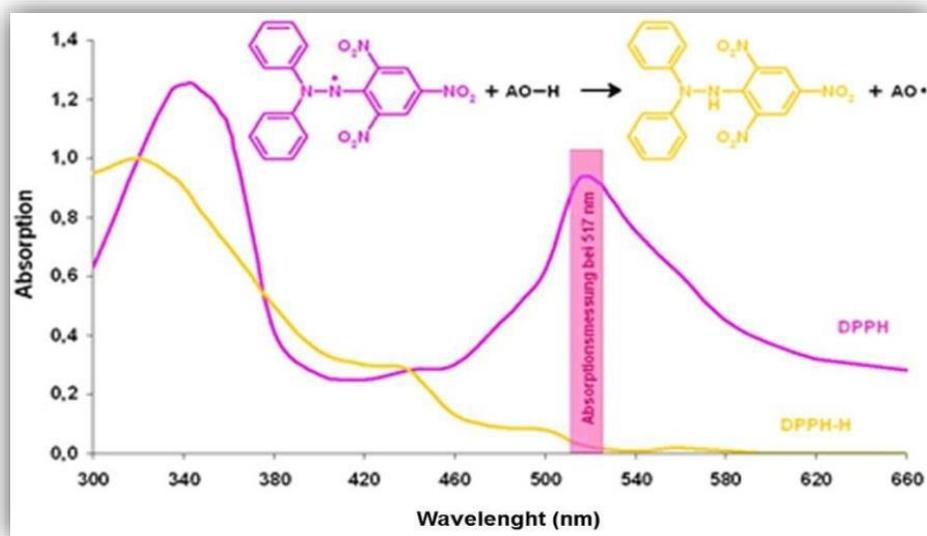
**Tableau 7:** Principales caractéristiques des spectres UV-Visible des flavonoïdes (Markham, 1982).

<b>Bande II</b>	<b>Bande I</b>	<b>Types de flavonoïdes</b>
250-280	310-350	Flavones
250-280	330-360	Flavonols substitués en C3
250-280	350-385	Flavonols
245-275	310-330 (épaulement pic à 320)	Isoflavones Isoflavones (5-desoxy-6,7-dioxygénés)
275-295	300-330 Épaulement	Flavanones et dihydroflavonols
270-280	465-560	Anthocyanes

### 7. Evaluation de l'activité antioxydante par diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH).

#### ✿ Principe :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation entre la structure et l'activité anti radicalaire des composés phénoliques. Il possède un électron célibataire sur un atome du pont d'azote. En présence des Piégeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune.



**Figure 19:** Graphique montrant le changement de la couleur du DPPH du violet au jaune (Benattia., 2017).

### • Mode opératoire :

L'activité anti-radicalaire de l'échantillon de ces extraits étudiés selon le protocole suivant :

- 3ml de DPPH ont été ajoutés aux 4 tubes de chaque phase donc 12 tubes.
- L'ajout de 2 gouttes, 0,2 et 0,5ml d'extrait de chaque phase dans 12 tubes et en attendant jusqu'au changement de couleur, en calculant le temps.
- Le dernier tube est un témoin qui contient que du DPPH.

# **Chapitre VI :**

# **Résultats et**

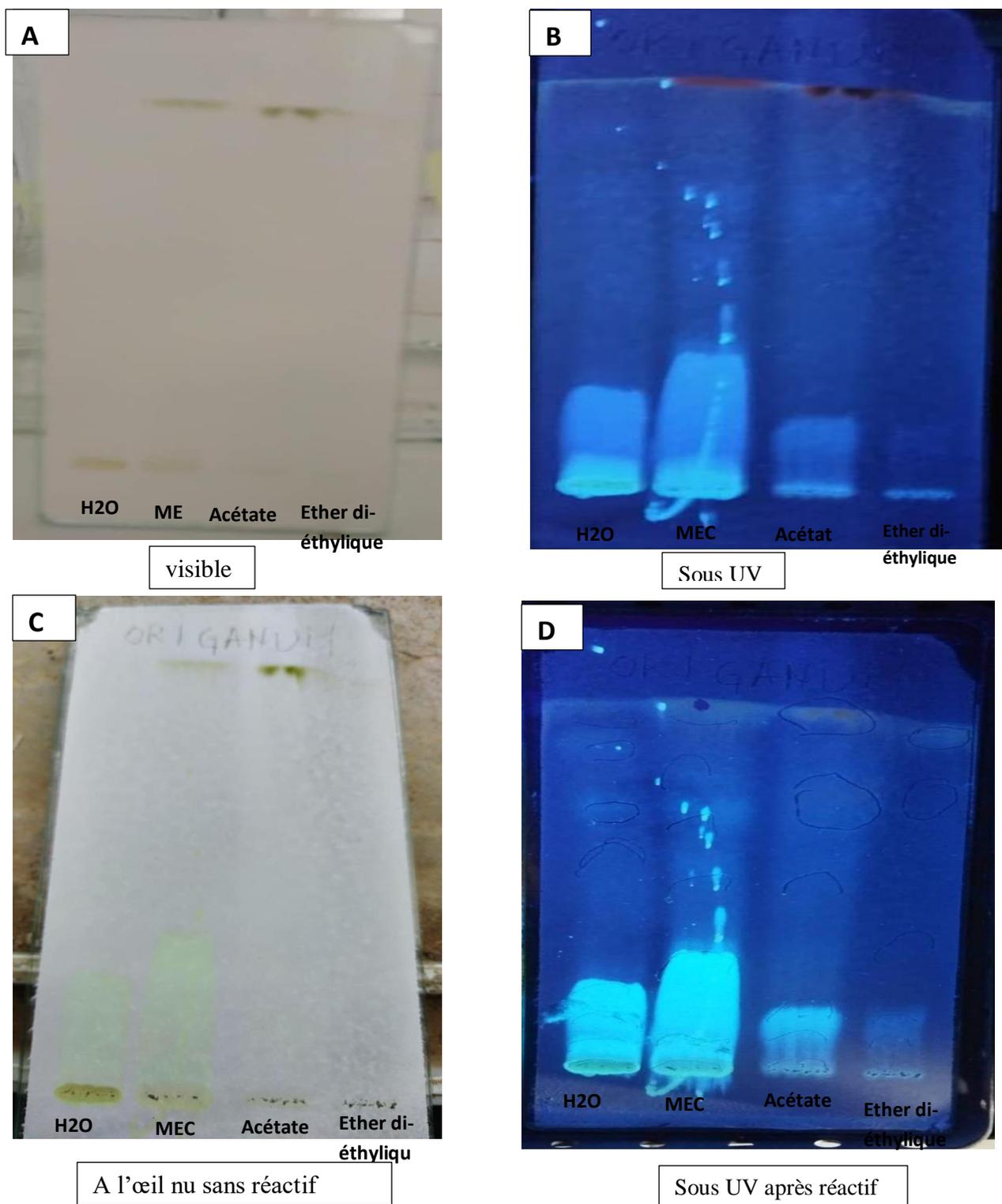
# **discussions.**

**I. Résultats de l'aspect qualitatif :**

**1. Diagnostic par chromatographie des composés phénoliques et flavonoïdes :**

Une chromatographie analytique a été réalisée, en choisissant le système solvant (MEC/MeOH/EOH/éther de pétrole : 40/30/30/7) pour les phases. Cette technique peut nous informer sur le contenu en polyphénols et en particulier en Flavonoïdes des extraits analysés sous forme des spots flavonoïques.

Après séchage la plaque de chromatographie, ils sont examinées à l'œil nu, sous l'UV à la longueur d'onde de 354 nm dans une chambre noire, avant et après pulvérisation avec le réactif de Neu, **Figure 20**.



**Figure 20:** CCM analytique des flavonoïdes d'*Origanum vulgare* sur la plaque de polyamide DC6. A : à la lumière visible, B : au UV 365 nm, C : à la lumière visible après pulvérisation spécifique des polyphénols, D : au UV 365 nm après pulvérisation spécifique des polyphénols.

## Chapitre 6 : Résultats et discussion.

---

Les extraits sont dans l'ordre suivant de la droite à gauche : **phase éther di-éthylique, phase acétate, phase MEC, phase eau.**

D'après les résultats du chromatogramme les spots à la lumière visible sont jaunes fluorescents, la couleur est intense dans les phases : MEC et eau, mais faible et pas claire dans la phase acétate, alors qu'elle est très faible dans l'éther di-éthylique. D'après le tableau de (Markham, 1982) la couleur jaune fluorescente confirme la présence des flavonoïdes de types flavonols. L'étude de (Djemel et al., 2011) a un résultat proche présence de couleur jaune fluorescente.

La couleur violette dans la phase éther révèle les molécules de types : flavones, flavanones, di-hydroflavones. Alors que la tache jaune verdâtre de la phase eau est due à la présence de Kaempférol qui est de type flavonols.

Sous UV 650 nm, la couleur commune des taches dans 4 phase est bleue claire fluorescente, couleur intense dans les 2 phases MEC et eau, faible dans l'acétate et très faible dans l'éther, selon le tableau ça réfère aux flavones sans 5-OH libre et flavones sans 3 et 5 OH libres (Markham, 1982).

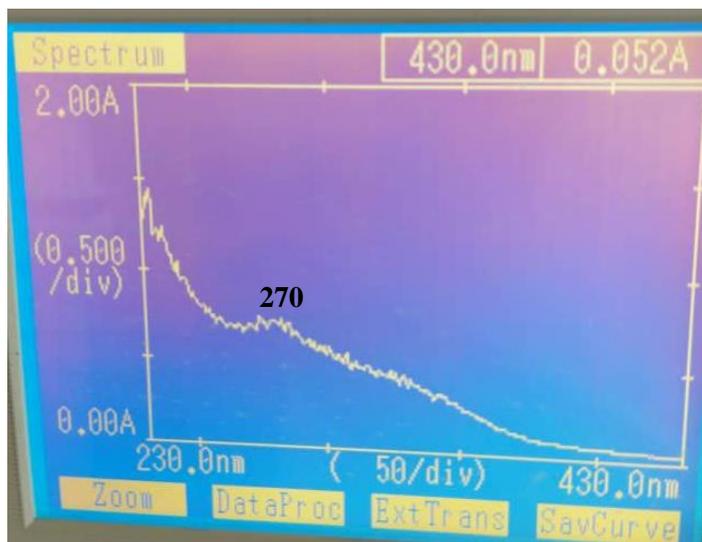
**Tableau 8:** Mise en évidences des flavonoïdes présents dans les différentes phases d'extraction.

Extrait	Fluorescence UV	Rf des spots
Phase éther di éthylique	Bleu clair (fluorescent)	0.015
	Violet	0.15
Phase acétate	Jaune	0.03
	Bleu clair (fluorescent)	0.19
	Jaune	0.96
Phase MEC	Bleu clair (fluorescent)	0.35
Phase eau	Jaune verdâtre	0.038
	Bleu clair	0.23

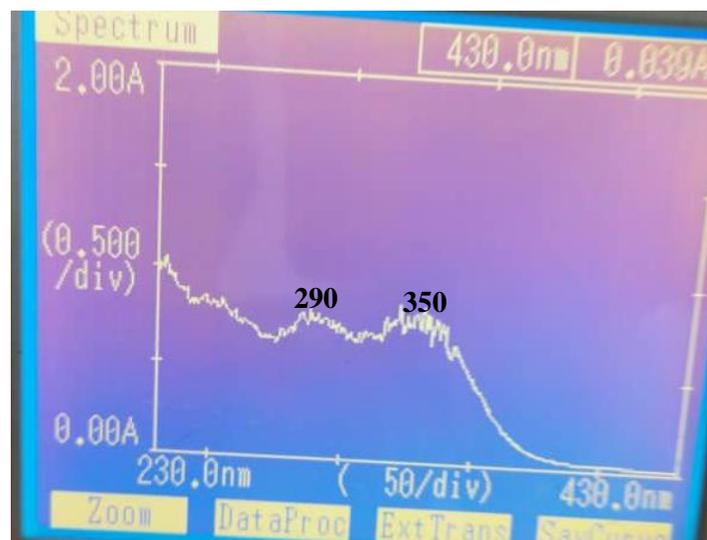
D'après les résultats, *Origanum vulgare* c'est une espèce riche en flavonoïdes de type : **flavonols, flavonones, flavanones, di-hydroflavones.**

## 2. Analyse spectrale des fractions :

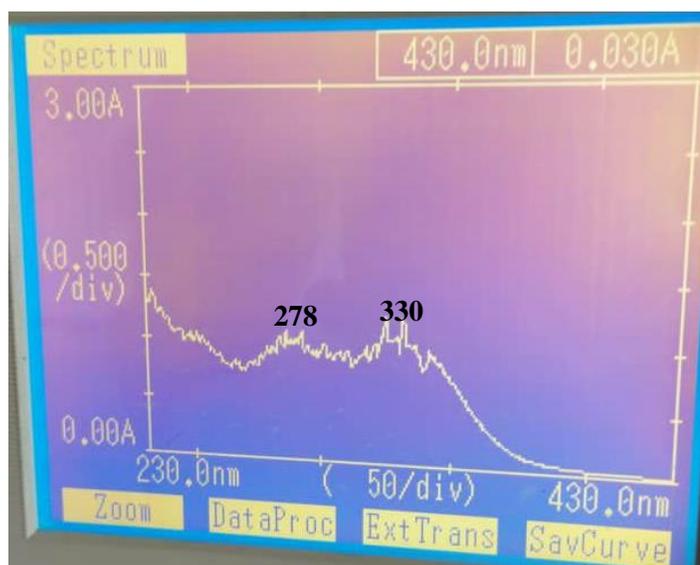
L'analyse spectrale de chaque phase est illustrée dans la **Figure 21**, la spectroscopie UV-Vis reste le principal outil d'analyse structurale des flavonoïdes.



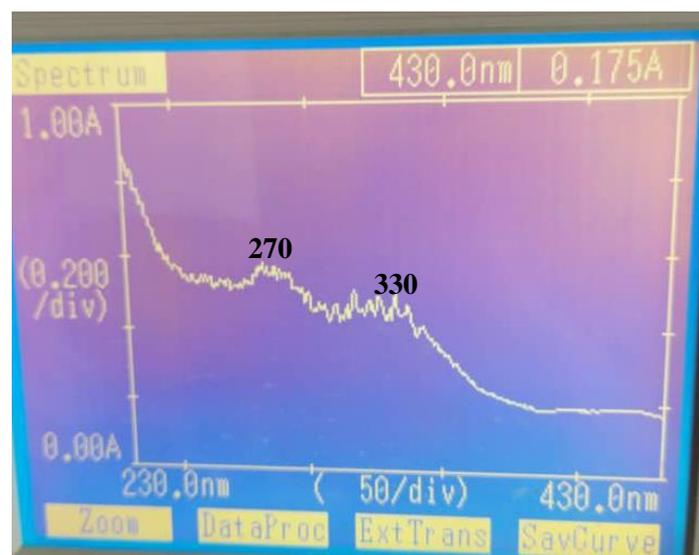
**A : Ether di-éthylique**



**B : MEC**



**C : H<sub>2</sub>O**



**D : Acétate**

**Figure 21:** Les spectres des différentes phases : Ether, MEC, H<sub>2</sub>O et Acétate.

## Chapitre 6 : Résultats et discussion.

Dans le domaine UV-Vis (230-430 nm), les solutions méthanoliques d'origan de la phase éther di-éthylique donne un seul pique dans l'intervalle [250-270], ce ne sont pas des flavonoïdes mais des acides phénoliques.

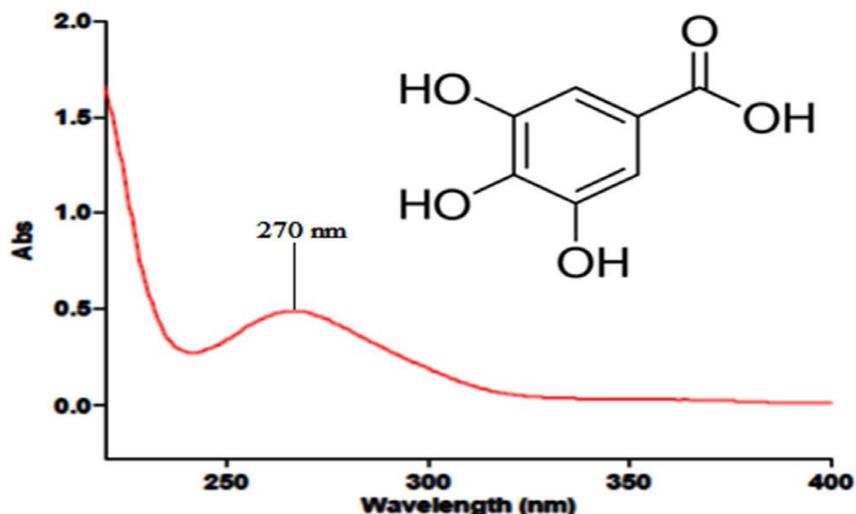


Figure 22: spectre d'absorption d'acide gallique (Mansuri et al., 2019).

En comparant le spectre d'absorption d'acide gallique **Figure 22**, avec celle de l'éther di-éthylique les 2 ont un seul pic à l'intervalle [250-270 nm], on remarque une grande similarité, il est bien apparu que la phase éther riche en acide phénoliques de type acide gallique.

En comparant les résultats obtenus, les 3 phases MEC, H<sub>2</sub>O et acétate ont 2 intervalles d'absorbance communs, le 1<sup>er</sup> [275-295] qui est le domaine d'absorbance de **Bande II** des flavonoïdes de types : Flavonones et di-hydroflavonols. Alors que le 2<sup>ème</sup> intervalle est [310-350] qui est le domaine d'absorbance de **Bande I** des types de flavonoïdes cités. L'extrait d'*Origanum vulgare* est riche en flavonoïdes de types : **Flavonones et di-hydroflavonols**.

En ce qui concerne pour l'espèce Algérienne des travaux réalisés par (Djemel et al., 2011) dont les résultats de cette étude, qui ont des résultats proches dont les phases MEC et H<sub>2</sub>O ont le même intervalle d'absorption.

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux des études précédentes car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Les résultats de l'étude mentionnée sont proches car ils ont utilisé le même protocole et le même solvant d'extraction.

## Chapitre 6 : Résultats et discussion.

---

Les résultats de spectrophotométrie correspondent aux résultats obtenus par la CCM, dans les 2 méthodes, on a démontré la présence de flavonoïdes dans l'extrait d'origan de types : flavonones et flavonols et flavones.

### II. L'activité anti-radicalaire par DPPH :

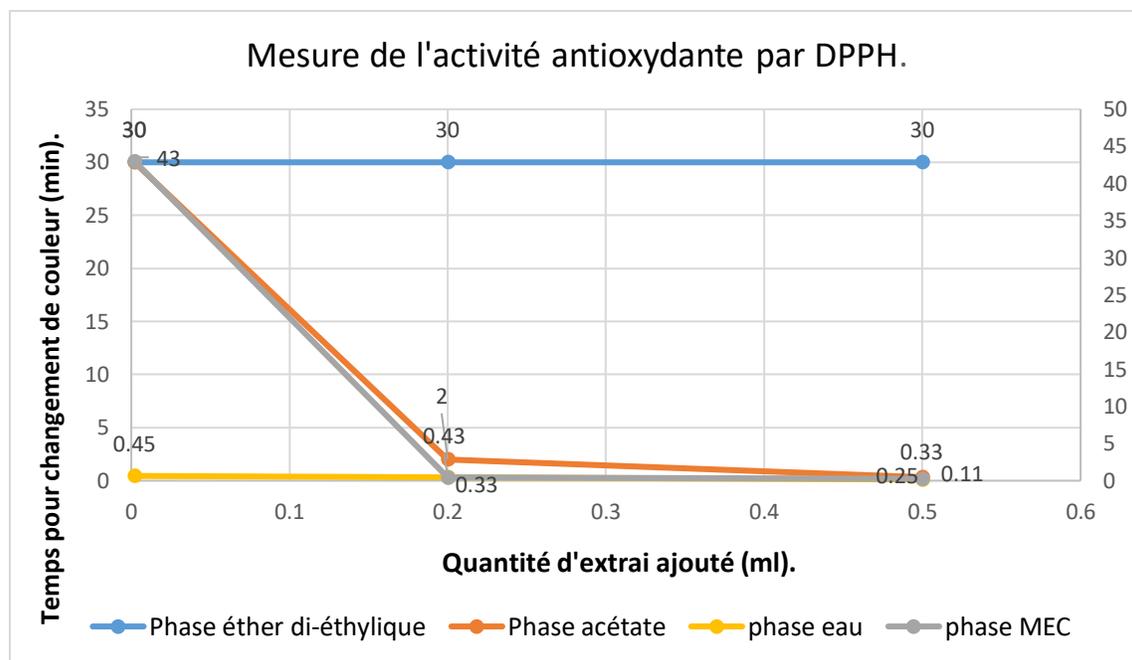
**Tableau 9:** Résultats de DPPH par changement de couleur.

<b>Extrait</b>	<b>Ether di-éthylrique</b>	<b>Acétate</b>	<b>MEC</b>	<b>H<sub>2</sub>O</b>
0.5 ml	Aucun changement (30 min) <b>violet</b>	<b>Jaune</b> (0.33 min)	<b>Jaune</b> (0.25 min)	<b>Jaune</b> (0.11 min)
0.2 ml	Aucun changement (30 min) <b>violet</b>	<b>Jaune</b> (2 min)	<b>Jaune</b> (0.43 min)	<b>Jaune</b> (0.33 min)
2 gouttes	Aucun changement (30 min) <b>violet</b>	<b>violet clair</b> (30 min)	<b>Jaune</b> (43 min)	<b>Jaune</b> (0.45 min)

Les résultats de tableau sont représentés dans le graphique suivant qui représente le temps mesuré de changement de couleur d'extrait du violet au jaune en fonction de la quantité ajoutée de chaque phase.

L'activité antioxydante est inversement proportionnelle aux temps pris lors du changement de radical de violet au le jaune, par une simple comparaison entre le changement de couleur des 4 phases, on peut remarquer que l'activité des 4 phases est dans l'ordre suivant : H<sub>2</sub>O, MEC, Acétate et la plus faible de l'Ether.

La phase H<sub>2</sub>O a la meilleure activité anti-radicalaire de DPPH, juste en quelques secondes la couleur change immédiatement du violet au jaune, peu importe la quantité d'extrait : 0.5- 0.2 ou 2 gouttes, cette phase qui a pris le moindre temps pour changer la couleur.



**Figure 23:** Temps de changement de couleur de DPPH en fonction de la quantité d'extrait.

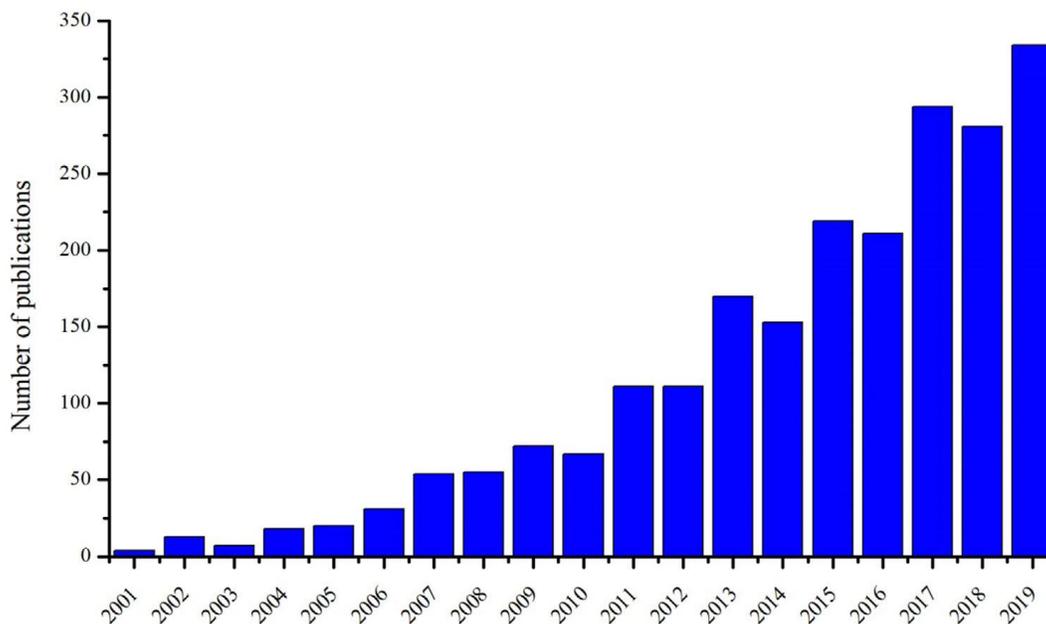
Les 2 phases qui ont une activité antioxydante supérieurs : H<sub>2</sub>O et MEC, sont ceux qui ont une meilleur migration et séparation avec couleur intense dans CCM ; et les même qui ont un spectre d'absorption des flavonoïdes, ce qui démontre que les flavonoïdes des 2 phases sont responsable de ce piégeage de ce radicale : flavonoes, flavonones et flavonols. Alors que l'extrait d'éther di-éthylique qui a une couleur faible et un spectre non correspondant aux flavonoïdes ce qui correspondre à a une activité anti-radicalaire faible à cause de l'absence des flavonoïdes, cette faible activité est peut être due à la présence des acides phénols dans cette phase.

# **Chapitre VII :**

## **Relation entre les polyphénols et le diabète**

### 1. Les polyphénols alimentaires comme un agent antidiabétique :

Depuis 2010, le nombre d'étude sur le sujet « polyphénols et diabète » ont été augmenté voir **Figure 24**, les composés phénoliques ont été largement étudiés comme agents antidiabétiques dans les cellules animales, humaines ou même par des essais cliniques pour prouver leurs effets contre le diabète sucré type 2 (**Sun et al., 2020**).



**Figure 24:** Augmentation des recherches sur "diabète et polyphénols" depuis 2010 (**Sun et al., 2020**).

### 2. Mécanisme des polyphénols alimentaires comme un agent antidiabétique :

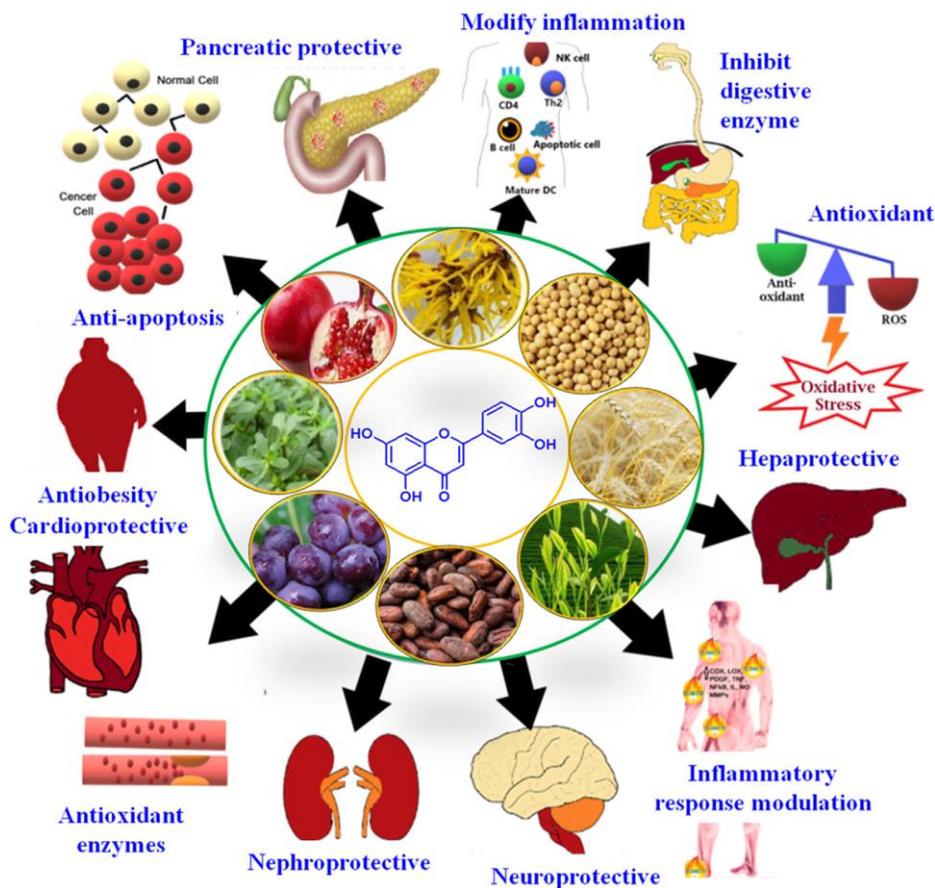
D'après les études citées dans la revue (**Sun et al., 2020**), il a été suggéré que les polyphénols exercent leur fonction anti diabète par beaucoup d'effets (**Figure 25**), ces derniers sont classés dans 2 catégories :

- **Par des effets insulino-dépendants :**
  - ✓ Protection des cellules  $\beta$  pancréatique.
  - ✓ Lancement de la prolifération des cellules  $\beta$ .

## Chapitre 7 : Relation entre les polyphénols et le diabète.

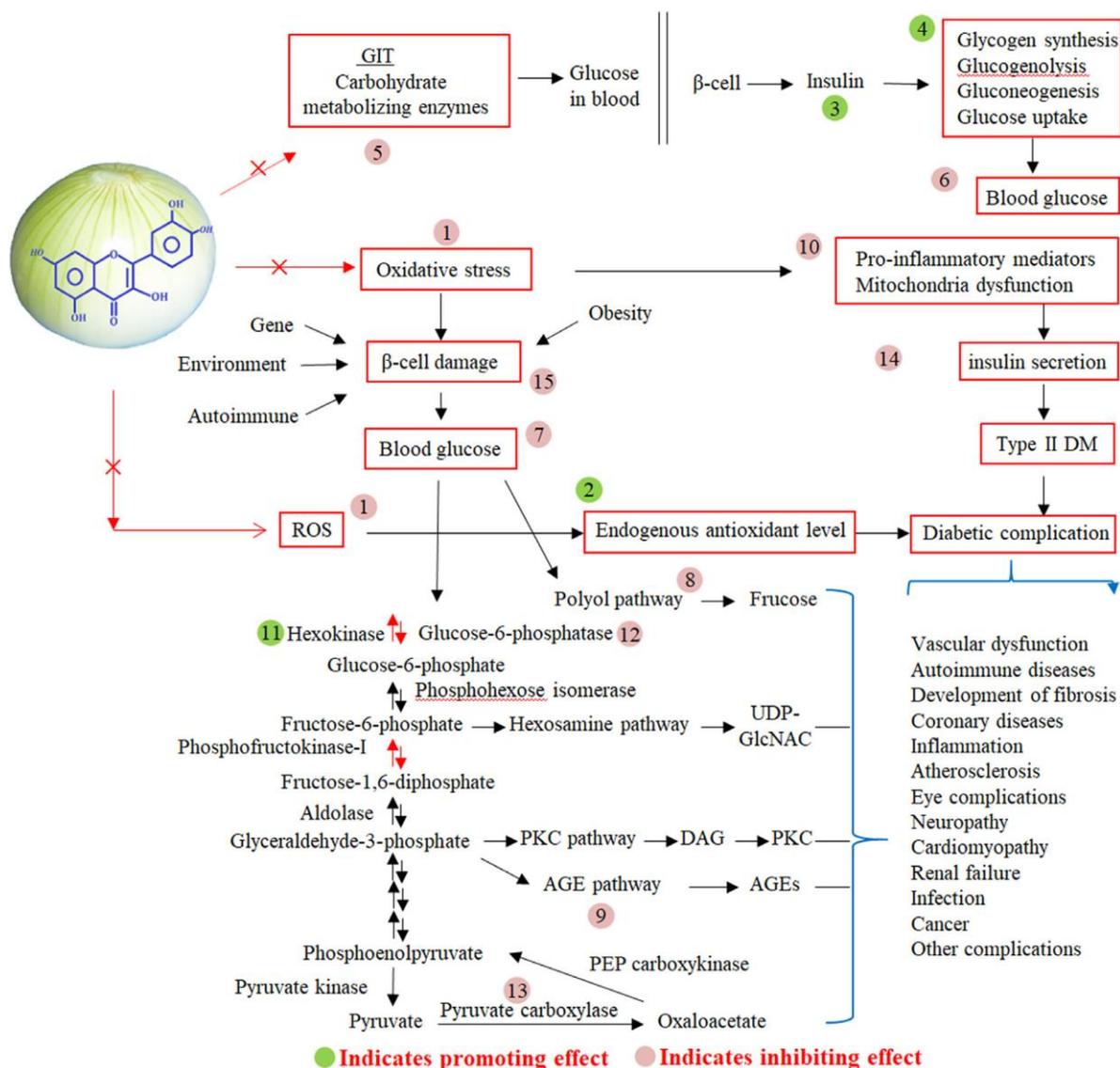
- ✓ Atténuation du stress oxydatif
- ✓ Stimulation de la sécrétion d'insuline.
- Par des effets non insulino-dépendants :
  - ✓ Inhibition de l'absorption du glucose par les enzymes digestives dans l'intestin
  - ✓ Régulation de l'équilibre de la flore intestinale
  - ✓ Modification de la réponse inflammatoire.

Les polyphénols ont aussi un rôle important dans la réduction du risque de complications du diabète comme ; l'insuffisance rénale, néphropathie, rétinopathie...etc, **Figure 25**.



**Figure 25:** les effets antidiabétiques des polyphénols (Sun et al., 2020).

## Chapitre 7 : Relation entre les polyphénols et le diabète.



**Figure 26:** Effets antidiabétiques des polyphénols alimentaires (*Sun et al., 2020*).

Une supplémentation quotidienne de 1 500 mg de curcumine peut diminuer la glycémie à jeun, le poids et soulager les complications du diabète chez patients diabétiques de type 2 dans un essai clinique randomisé en double aveugle. Aussi certaines études cliniques ont prouvé de manière convaincante l'effet antidiabétique effet du resvératrol, cela pourrait résulter une amélioration de la glycémie et un contrôle de la résistance à l'insuline par réduction du stress oxydatif (*Sun et al., 2020*).

La capsaïcine est un polyphénol trouvé dans les piments rouges signalé pour thérapeutique utilisations dans des maladies telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires et cancer. Dans

## Chapitre 7 : Relation entre les polyphénols et le diabète.

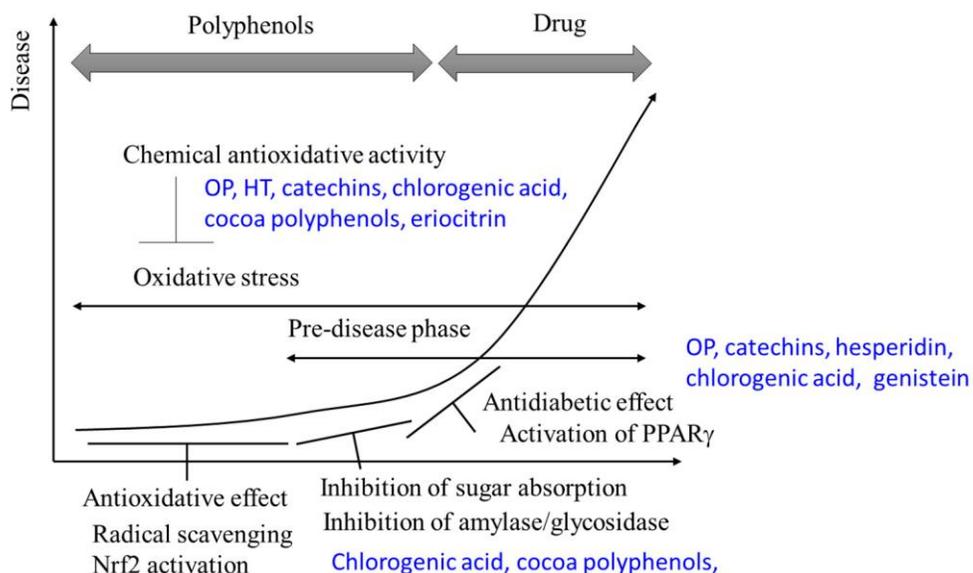
un essai clinique, supplémentation de 5 g de *Capsicum frutescens* chez les patients atteints de DT2 ont entraîné une réduction de la glycémie et de la maintenance des niveaux d'insuline (Sun et al., 2020).

### 3. Relation activité antidiabétique et antioxydante des polyphénols :

Le dysfonctionnement des cellules  $\beta$  du pancréas dont le stress oxydatif est le facteur responsable, les antioxydants naturels : les polyphénols quel que soit le type sont connus par leur activité antioxydante qui prévient et supprime l'effet du stress oxydatif et donc indirectement le diabète de type 2 DT2.

La majorité des polyphénols testés dans l'étude (Umeno et al., 2016) et l'inhibition de l'absorption du glucose dans l'intestin et l'activation des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes PPAR  $\gamma$  qui interviennent dans la résistance à l'insuline et DT2, parmi ces composés phénoliques : isoflavones, les catéchines les acides phénols, hespéridine... voir Figure 27.

La compréhension de l'interaction directe entre l'activité antioxydante et antidiabétique reste non claire et doit être clarifiée à l'avenir.



**Figure 27:** L'effet préventif des polyphénols à chaque niveau du diabète (Umeno et al., 2016).

**Conclusion et  
perspectives.**

## Conclusion et perspectives :

Le présent travail a pour objectif de réaliser la plante médicinale d'origan : *Origanum vulgare*. L'origan possède un vaste historique dans les traitements traditionnels et représente une valeur médicinale heuristique. Récemment beaucoup d'étude s'intéressent aux applications biologiques de cette plante dans des domaines différents : agroalimentaire ; comme un conservateur dans le pain, domaine de cosmétique comme un antibactérien dans les déodorants ou plutôt comme un antidiabétique naturel. Le diabète sucré est une maladie chronique, c'est l'un des problèmes majeurs de santé publique et augmente rapidement dans toutes les parties du monde.

Dans cette étude 4 extraits ont été préparés : phase éther di-éthylique, phase acétate, phase MEC et phase d'eau. Les 4 phases ont été diagnostiquées par deux techniques analytiques : CCM et spectrophotométrie UV- visible (230-430nm), CCM a donné des taches de couleur bleu fluorescente revient aux polyphénols flavonoïdes de types flavonones et flavonols.

L'activité antioxydante a été mesurée par changement de couleur lors du piégeage du radical DPPH. Les résultats des techniques analytiques et de l'activité anti-radicalaire des extraits de 4 phases ont révélés la présence des polyphénols de types flavonoïdes : flavonones, flavones et flavonols.

L'activité antidiabétique de l'origan a été étudié par plusieurs études en mesurant l'inhibition des 2 enzymes clés alpha amylase et alpha glucosidase, ce qui lui permet de devenir un alternatif aux antidiabétiques.

### Perspectives :

- Faire des études in-vivo pour prouver les études in-vitro.
- Proposer des formulations en agro-alimentaires et cosmétique à base d'extrait d'origan.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

**Banerjee, M., Khursheed, R., Yadav, A. K., Singh, S. K., Gulati, M., Pandey, D. K., ... & Pandey, N. K. (2020).** A systematic review on synthetic drugs and phytopharmaceuticals used to manage diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 16(4), 340-356.

**Béjaoui, A., Boulila, A., & Boussaid, M. (2013).** Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. from Tunisia. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(32), 2429-2435.

**Bouhelassa, M. (2019).** Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif.

**Chalchat, J. C., & Pasquier, B. (1998).** Morphological and chemical studies of *Origanum* clones: *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*. *Journal of Essential Oil Research*, 10(2), 119-125. DOI : [10.1080/10412905.1998.9700861](https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700861)

**Djemel, I. Aggoune, H. (2011).** *Etude des composés phénoliques et mise en évidence de l'activité anti-oxydante chez 3 plantes médicinales : Thymus hirtus, Origanum vulgare et Rosmarinus officinalis* [Mémoire de master, université des frères Mentouri Constantine].

**FIGUEREDO G. (2007)-** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origan (Lamiaceae) cultivées issues de graines d'origine méditerranéenne, thèse doctorat, Université Blaise Pascal.

**Griffith, A. M. T. (2012).** Inhibition of  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase by Bioflavonoids.

**Guérin-Dubourg, A. (2014).** *Étude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2: identification de biomarqueurs de glycoxydation et de facteurs de risque de complications vasculaires* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

**Ietswaart, J. H., & Ietswaart, J. H. (1980).** *A taxonomic revision of the genus Origanum (Labiatae)* (Vol. 4, p. 158). The Hague: Leiden University Press.

**Khelfallah, A. (2013).** Etude comparative du contenu phénolique et du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales et des céréales alimentaires

**Lamblin, F., Hano, C., Fliniaux, O., Mesnard, F., Fliniaux, M. A., & Lainé, É. (2008).** Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers. *médecine/sciences*, 24(5), 511-520.

**Lahouel, M. (2005).** *Interaction flavonoïdes mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine).

**Liyanagamage, D. S. N. K., Jayasinghe, S., Attanayake, A. P., & Karunaratne, V. (2020).** Medicinal plants in management of diabetes mellitus: An overview. *Ceylon Journal of Science*, 49(1), 3-11.

**Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Sarni-Manchado, P. (2006).** Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. *Les polyphénols en agroalimentaire*. Coordonnatrices Sarni-Manchado P et Cheynier V, TEC et DOC.(Eds), Lavoisier, Paris, 390, 399.

**Mahfouf, N. (2018).** *Étude de l'espèce Origanum vulgare L* (Doctoral dissertation, Université Chadli Benjedid-El Tarf (Algérie)).

**Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.

**Merghem R. (2009).** *Eléments de biochimie végétale : Vol. 16\*24* (1ère édition). Bahaeddine édition.

**O.M.S. (2002).** Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.

***Origanum vulgare* — *wild marjoram*. (s. d.).** Go botany native plants trust. Consulté le 3 avril 2022, à l'adresse <https://gobotany.nativeplanttrust.org/species/origanum/vulgare/>

**Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011).** Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513-523.

**Ryu, H. W., Lee, B. W., Curtis-Long, M. J., Jung, S., Ryu, Y. B., Lee, W. S., & Park, K. H. (2010).** Polyphenols from *Broussonetia papyrifera* displaying potent  $\alpha$ -glucosidase inhibition. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(1), 202-208.

**Rusznayk I.; Szent-Gyorgyi A. (1936).** Vitamin P: flavanols as vitamins. *Nature.*, 138: 27.

**Spada, P., & Perrino, P. (1996, May).** Conservation of Oregano species in national and international collections: an assessment. In *Oregano, proceedings of the IPGRI International workshop on Oregano* (pp. 8-12).

**Sahnine, N., & Yahiaoui, Y. (2018).** *Analyse des moyens à mettre en œuvre pour lutter contre le diabète : Cas CHU l'hôpital belloua Tizi-Ouzou* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

**Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017).** Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715-748.

**Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., ... & Al-Hiary, M. (2019).** Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1397-1400.

**Sarikurkcu, C., Zengin, G., Oskay, M., Uysal, S., Ceylan, R., & Aktumsek, A. (2015).** Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. *Industrial Crops and Products*, 70, 178-184.

**Sun, C., Zhao, C., Guven, E. C., Paoli, P., Simal-Gandara, J., Ramkumar, K. M., ... & Xiao, J. (2020).** Dietary polyphenols as antidiabetic agents: Advances and opportunities. *Food Frontiers*, 1(1), 18-44.

**Umeno, A., Horie, M., Murotomi, K., Nakajima, Y., & Yoshida, Y. (2016).** Antioxidative and antidiabetic effects of natural polyphenols and isoflavones. *Molecules*, 21(6), 708.

**World Health Organization (WHO). (2018).** Health statistics and information systems: Disease burden and mortality estimates. [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/estimates/en/index1.html](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index1.html)

# Résumé

### Résumé :

La présente étude contribue à la valorisation d'une plante aromatique répandue dans la région Méditerranéenne : *Origanum vulgare* par l'étude analytique d'extrait méthanolique et étudier leur activités antioxydante.

Le criblage phytochimique par 2 techniques analytiques: CCM et UV-Vis (230-430 nm) des 4 phases d'extrait d'origan : MEC, Ether di-éthylique, eau et acétate permettent de mettre en évidence la présence des composés phénoliques de groupe flavonones, flavones et flavonols., La phase la plus riche en antioxydants notamment en flavonoïdes c'est la phase d'eau, suivi par la phase de MEC, les 2 phases restantes.

Les résultats de piégeage de DPPH sont bien accordés avec les techniques analytiques faites ; la phase d'eau a la plus forte activité antioxydante suivie par l'autre phase de même ordre. *O. Vulgare* une plante riche en polyphénols, flavonoïdes qui sont responsable de l'activité antioxydante.

**Les mots clés :** *Origanum vulgare*, activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes.

### الملخص:

في إطار تّمين النباتات العطرية الطّبية، التي تنمو بكثرة في منطقة البحر الأبيض المتوسط: الزعتر، عن طريق تقنيتين تحليليتين كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و القياس عن طريق الطيف تحت الأشعة المرئية – البنفسجية (230-430 نانومتر)

لاربع اطوار مختلفة: طور الماء، طور الاستات و طور ايستر دي ايتيليك و طور MEC

تمت غربلة المكونات عن طريق التقنيات التحليلية و اكدت النتائج وجود المركبات الفينولية من نوع فلافونويدات: فلافونولة فلافونولة فلافونول. طور الماء كان اقوى طوره يليه MEC ، و بعدها الاطوار الأخرى حيث طور الاستيل هو اقدرهم.

فحوصات لمضادات الأكسدة تتوافق مع نتائج التقنيات المذكورة، أظهرت ان طور الماء يحتوي اقوى نشاط مضاد للاكسدة تليه الاطوار الأخرى بنفس الترتيب. الزعتر نبات غني ب الفلافونيدات من نوع فلافونون, فلافون و فلافونول

**الكلمات المفتاحية:** نبات الزعتر، نشاط مضاد للأكسدة، فلافونويدات، بولي فينول.

**ABSTRACT:**

This study aims to valorize aromatic medicinal plants that grows in the Mediterranean region: *Origanum vulgare*, by studying oregano methanolic extracts and their antioxidant capacity.

The phytochemical diagnostic is done by two analytical techniques: TLC and spectrophotometry UV-Vis (230-430 nm), for the 4 phases: aquatic phase, acetate, di-ethyl ether and MEC, makes sure the presence of flavonoids types: flavonones, flavones and flavonols. The aquatic phase shown the richest in flavonoids, followed by MEC, and the rest phases.

The results of DPPH scavenging essay accorded with the two analytical techniques, the aquatic phase extract shown the strongest antioxidant activity, followed by the other phases in the same order. Oregano is a plant rich in polyphenols and flavonoids.

**Key words:** *Origanum vulgare*, Antioxidant activity, flavonoids and polyphenols.

**Année universitaire : 2021/2022**

**Présenté par : MADACI ABD ELMOUMEN**

*DEFFAS BEDREEDDINE*

**Caractérisation moléculaire de l'extrait hydro alcoolique d'*Origanum vulgare* et l'étude du pouvoir antioxydant.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

**Résumé :**

La présente étude contribue à la valorisation d'une plante aromatique répandue dans la région Méditerranéenne : *Origanum vulgare* par l'étude analytique d'extrait méthanolique et étudier leur activités antioxydante.

Le criblage phytochimique par 2 techniques analytiques: CCM et UV-Vis (230-430 nm) des 4 phases d'extrait d'origan : MEC, Ether di-éthylique, eau et acétate permettent de mettre en évidence la présence des composés phénoliques de groupe flavonones, flavones et flavonols., La phase la plus riche en antioxydants notamment en flavonoïdes c'est la phase d'eau, suivi par la phase de MEC, les 2 phases restantes.

Les résultats de piégeage de DPPH sont bien accordés avec les techniques analytiques faites ; la phase d'eau a la plus forte activité antioxydante suivie par l'autre phase de même ordre.

*Origanum Vulgare* une plante riche en polyphénols, flavonoïdes qui sont responsable de l'activité antioxydante.

**Mots clés :** *Origanum vulgare*, activité antioxydante, polyphénols, flavonoïdes.

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** Merghem Rachid (Pr –UFM Constantine 1).

**Examineur 1 :** Nouadri Tahar (Pr -UFM Constantine 1).

**Examineur 2 :** Medoukali Imene (MCB- UFM Constantine1).

**Date de soutenance :** 29 /06/2022