



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 الشهيد حمزة الأخضر - الوادي  
*Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued*  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
قسم البيولوجية الحيوية والجزئية  
*Département de biologie Cellulaire et Moléculaire*

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences  
biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

### THEME

*Etude des activités biologiques de trois espèces  
du genre Origanum.*

Présentés Par :

M<sup>elle</sup> BIA Soumia.

Devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>me</sup>NADJI Nasima.

M.A.A

Université d'El Oued.

Examinatrice : M<sup>me</sup>MEDILA Ifrikia.

M.C.A

Université d'El Oued.

Promotrice : M<sup>me</sup>CHENNA Addala.

M.A.A

Université d'El Oued.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# Remerciements

Louange à Allah, le très puissant, clément et miséricordieux de nous avoir donné la force et la patience nécessaires pour réaliser ce travail de recherche.

Nos plus vifs remerciements vont d'abord à notre directrice de mémoire madame CHENNA Adala maître assistante A au Département de Biologie , Université Echahid Hamma Lakhdar-El-Oued pour avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir proposé ce sujet de mémoire . Merci pour sa gentillesse, sa patience, ses précieux conseils et la totale confiance qu'elle nous a accordé.

Nos sincères remerciements vont également aux membres de jury de notre mémoire pour avoir bien voulu accepter de juger ce travail : Melle MEDILA Ifrikia , maitre de conférence C au département de Biochimie , Université Echahid Hamma Lakhdar et Mme NADJI Nassima , maitre assistante A au département de Biochimie, Université Echahid Hamma Lakhdar. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect .

Notre remercie infiniment à Monsieur le docteur DEROUICHE Samir pour son aidetrès important et sa contribution au cours de la réalisation de ce travail .

Nos très spéciaux remerciements reviennent à Mme KADRI Mounira et Mr KHELEF Yahya Maîtres assistants à l'Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued , pour les conseils et les remarques critiques qui nous ont été bénéfiques pour la réalisation de ce travail .

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel du laboratoire de biochimie et de vigetale :Sana ,Bouchra , Salma , pour leurs disponibilités et les nombreux services qu'ils nous ont rendu durant la réalisation de ce travail

Merci à tous nos amis : Kadidja , yesa , roumaissa ,Kawther , Fatima , Hadjer, Aicha, pour leurs soutien , leurs mots encourageants , pour leurs amitié sincère .

Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion de mastèr Biochimie 2019.

Enfin , nous adressons nos plus sincères remerciements à toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travail .

# *Dédicace*

**A ce lui qui m'a pris comment patienter et réussir.**

**A ce lui qui a laisse un grand vide dans ma vie .C' est mon père qui a  
quitte ce monde que dieu garde dans son pardi**

**A celle qui m'aide a surmonter les difficultés . A celle qui son image  
ne me quitte tous les jours qui est ma vie est ma mère**

**A ceux qui sont plus proche que mon âme se sont mon frère et mes  
sœurs qui dieu les garde .**

**Sans oublier mes collègues d' étude**

**Enfin , je dedie ce travail a tous ce qui ont presente leur aide et à *tous  
ceux que ma réussite leur tient à coeur***



## Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste d' abréviation	
Introduction.....	01

### PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIE

I. Généralité sur l'Origanum .....	
I.1.Historique.....	4
I.2.Classification botanique.....	4
I.3. Description botanique de la famille lamiacée .....	5
I.4. Présentation et description botanique de genre <i>origanum</i> .....	5
I.5.Répartition géographique de genre <i>origanum</i> .....	6
<b>I.5.1.Dans le monde.....</b>	<b>6</b>
<b>I.5.2.En Algérie .....</b>	<b>6</b>
I.6.Distribution géographique et description botanique de quelque espèce du genre <i>Origanum</i> .....	7
<b>I.6.1. Origanum majorana L (O. majoranoides ,Majoranahortensis) .....</b>	<b>7</b>
<b>I.6.2. l'Origanumvulgare .....</b>	<b>8</b>
<b>I.6.3.l'Origanum floribundum.....</b>	<b>9</b>
II. Activité antioxydant.....	11
II.1. Antioxydants.....	12
<b>II.1.1. Définition .....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.2.Types d'antioxydants.....</b>	<b>12</b>
<b>II.1.3.Mode d'action des antioxydants .....</b>	<b>13</b>
<b>II.1.4.Utilisation des antioxydants .....</b>	<b>14</b>
<b>II.1.5. Toxicité des antioxydants .....</b>	<b>14</b>
II.2. Activité anti-oxydante .....	15
<b>II.2.1. Radicaux libres .....</b>	<b>15</b>
<b>II.2.2.Stress oxydatif .....</b>	<b>16</b>
<b>II.2.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant : .....</b>	<b>17</b>

III Activite anti enzymatique .....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
III.1. Diabète .....	20
III.1.1.Définition .....	20
III.1.2.Classification du diabète.....	20
III.1.3. Diagnostic.....	21
III.1.4. Complications de diabète.....	21
III.1.5. Traitements du diabète .....	22
III.1.6. Diabète et les enzymes.....	23
III.2.α Amylases .....	23
III.2.1. Définition.....	23
III.2.2. Structure .....	24
III .2. 3. Mécanisme d'action.....	26
III.2.4. Inhibition d'alpha amylase .....	26
III.3. Lipases .....	27
III.3.1. Définition.....	27
III.3.2. Structure .....	27
III.3.3. Source des lipases .....	28
III.3.4 Mode d'action des lipases .....	28
III.3.5. Types des lipases.....	29
III.3.6. Sélectivité des lipases .....	30
III.3.7. Origine des lipases.....	31

## PARTIE II : PARTIE PRATIQUE

I. Matériel.....	35
I.1. Matériel végétal .....	35
I.1.1. Situation géographique .....	36
I.1.2. Climat des zones d' étude.....	36
I. 2. Analyses phytochimiques .....	37

<b>I.2.1. Méthode de préparation d' extrait aqueux</b> .....	37
<b>II.3. Préparation des extraits</b> .....	38
<b>I.4. Analyse qualitatif par CCM</b> .....	39
I.4.1. Préparation des extrais pour les caractérisations phytochimiques par CCM .....	39
<b>I.4.2 . Séparation par chromatographie sur couches minces (CCM)</b> .....	39
<b>I.5. Activité antioxydante</b> .....	40
<b>I.6. Activite anti-enzymatique</b> .....	42
I.6.1. Évaluation de l' activite enzymatique in vitro ( l' $\alpha$ -amylase ) .....	42
II.6.2. Influence du temps sur le déroulement de l' activite de l'enzyme (l' amylase ) .....	43
I.6.3. Détermination des activités inhibitrices de l' alpha-amylase.....	44
<b>I.6.3.1.1. Préparation de solution mère de l'échantillon de plante étudier</b> .....	44
<b>I.6.3.1.2. Préparation la mélange de solution DNS et tartrate de sodium et de potassium</b> .....	44
<b>I.6.3.1.3. Préparation de solution d'amidon 0.5%</b> .....	45
I.6.3.2. Protocole expérimental.....	45
<b>I. Résultats</b> .....	47
<b>I.1. Analyse phyto-chimique</b> .....	47
<b>I.2.Préparation des extraits</b> .....	48
I.2.1.Rendement des extraits.....	48
<b>I.3. Analyse qualitative par CCM</b> .....	48
<b>I.4. Activité anti-oxydant</b> .....	56
<b>I. 5. Activité anti- enzymatique</b> .....	56
<b>I.5.1. Influence du temps sur le déroulement de l' activite de l'enzyme (l' amylase ) :</b> .....	57
<b>I.5.2.La détermination des activités inhibitrices de l' alpha-amylase :</b> .....	58
<b>II.2. discussion</b> .....	58
<b>Conclusion générale</b> .....	62
<b>Références bibliographiques</b> .....	64
<b>Annexes</b> .....	78

## Liste des Figures

Numéro	Titre	Page
1	Aspects morphologiques d' <i>Origanum vulgare</i>	04
2	Aire de distribution du genre <i>origanum</i> .	06
3	Présentation d' <i>Origanum majorana</i> .	07
4	Présentation d' <i>Origanum vulgare</i> .	09
5	Présentation d' <i>Origanum floribundum</i> .	10
6	Les structures moléculaires d'antioxydants synthétiques .	13
7	Les formes actives de l'oxygène dans la cellule	15
8	Diagramme de structure de l' $\alpha$ -amylase humain présente les trois domaines (rose et gris:domaine A; bleu le domaine B, rouge domaine C) avec l'ion chlorid (vert) et l'ion calcium (jaune).	24
9	Structure et le site catalytique de l' $\alpha$ -amylase.	24
10	Mécanisme catalytique	26
11	Structure dimensionnelle d'hélice (site active d'une lipase) .le feuillet beta enjaune, les hélices alpha en violet, les hélices alpha 310 en bleu, et les motifs 'turn' en cyan	28
12	Présentation d' <i>Origanum vulgare</i> (A) , d' <i>Origanum majorana</i> (B) et d' <i>Origanum floribundum</i> (C)	35
13	Localisation des régions des études (RHD-NJM)	36
14	Situation géographique des zones d'étude " Guemar ELOUED " (A) ; "TIZI-OUZOU " (B) et "weledmoumain SOUK AHRAS " GoogleMaps	37
15	Migration des constituants de l'extrait lors d'une CCM analytique	40
16	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (RH)	41
17	Histogramme du rendement des extraits d' <i>O.majorana</i> ,	48



	<i>O.vulgare</i> et les différent organes d' <i>O.floribandome</i> .	
18	La dégradation de l'amidon avec l'enzyme alpha amylase par l'influence du temps.	57

## Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Page
1	La classification botanique d' <i>Origanum</i> .	04
2	Principaux antioxydants naturels et sources alimentaires associées	12
3	Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée	17
4	Taux de la glycémie au cours de test du l'hyperglycémie provoquée par voie orale	21
5	Quelques médicaments anti diabétique actuellement commercialisés	22
6	Influence du temps sur le déroulement de l' activite de l'enzyme (l' amylase )	43
7	Résultats des tests pytochimiques réalisés sur les extraits de notre plantes étudiée	47
8	Rf de CCM et composés identifiés dans l' extraithexanique de tous les organes de trois espèses étudiées par CCM .	49
9	Rf de CCM et composés identifiés dans les extrais chloroformiquesde tous les organes de trois espèses étudiées par CCM .	52
10	Rf de CCM et composés identifiés dans les axtrais acétate éthyliques de tous les organes de trois espèses étudiées par CCM	54
11	Rf de CCM et composés identifiés dans les axtrais n – butanoliquede tous les organes de trois espèses étudiées par CCM .	55
12	Activité antioxydant des extraits d' <i>O. majorana</i> , <i>O .vulgare</i> et <i>O . floribundum</i>	56

13	Le résultat de influence du temps sur le déroulement de l'activite de l'enzyme (l' amylase )	57
14	L' activité d' inhibition de l' alpha _amylase	58

## ABREVIATION

<b>%</b>	<b>Porscentage</b>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	<b>Symbole chimique de l' eau</b>
<b>CCM</b>	<b>Chromatographie sur couche mince</b>
<b>G</b>	<b>Gramme</b>
<b>R%</b>	<b>Rendement exprimé en%</b>
<b>M</b>	<b>Masse engramme de l'extrait sec résultant.</b>
<b>M'</b>	<b>Masse en gramme du matériel végétal à traiter.</b>
<b>μ</b>	<b>Unite de mesure</b>
<b>μg</b>	<b>Micro gramme</b>
<b>μL</b>	<b>Micro litre</b>
<b>IC50</b>	<b>: Concentration inhibitrice de 50 %</b>
<b>DPPH</b>	<b>2,2-diphényle-1-picrylhydrazy</b>
<b>UV</b>	<b>Ultra violet</b>
<b>V</b>	<b>Volume</b>
<b>Nm</b>	<b>Nano maitre</b>
<b>BHA</b>	<b>Hydroxyanisole butylé</b>
<b>BHT</b>	<b>Hydroxytoluène butylé</b>
<b>THBQ</b>	<b>tert-butylhydroquinone</b>
<b>GP</b>	<b>Gallate de propyle</b>
<b>ERS</b>	<b>espèces réactives de soufre</b>
<b>ERO</b>	<b>espèces réactives oxygénées</b>
<b>ERN</b>	<b>espèces réactives d'azote</b>
<b>R</b>	<b>Rendement</b>
<b>DPPH</b>	<b>2,2-diphényle-1-picrylhydrazy</b>
<b>IC50</b>	<b>Concentration inhibitrice de 50 %</b>
<b>DMSO</b>	<b>Diméthylsulfoxyde</b>

# **Introduction général**

## Introduction général

Il y a plusieurs des plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent des application dans divers domaines tels que les industries pharmaceutiques , la médecine .Ces plantes représentent une nouvelle sources de composés actifs . En effet , les métabolismes secondaires font l'objet de nombreuses recherches in vivo et in vitro , notamment la recherche de nouveaux constituant naturels tels que les composés phénoliques et les huiles essentielles (HAZZIT, 2015).

les polyphénols sont des produits du métabolismesecondaire des végétaux(Boudjouref.M, 2011) . Elles possèdent des propriétés antimicrobiennes , anti oxydantes, anti-inflammatoires , anti prolifératrices et anticancéreuses(BOUYAHYA, 2016) ..

Le traitement actuel du diabète sucré vise à soigner et non à guérir la maladie ce qui représente un échec des traitements pharmaceutiques conventionnels, surtout dans le cas des maladies chroniques. De ce fait, et malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures, y compris dans les pays développés (De Smet, 2002) (Eisenberg DM, 1993). Dans 81% des cas, les indications traditionnelles de plantes antidiabétiques ont été expérimentalement confirmées (Marles R.J., 1995) . L'exemple classique est celui de *Galéga officinalis*, une plante largement utilisée dans le traitement du diabète en Europe (Oubré AY, 1997) .

Les plantes aromatiques sont largement répandues dans la nature , l'Algérie à unerichesse floristique renferme d'ensemble d'espèces importantes et variées. C'est pourquoi, nous nous somme intéressé à étudier les trois espèces de genre *Origanum* : *O.majorana* cultivées dans la région d' El-Oued , *O.vulgare* plante spontanée a été récolte à la région de Tizi-Ouzou et *O.flori bundum* à la région de souk ahrass .

Les objectifs de notre étude sont détermination la qualité de composition chimique et l'évaluation de l'activité anti oxydante , anti-enzymatique des extraits à la partie aérienne d'*Origanum majorana* , d'*Origanum vulgare* et *O.riganum flori bundum* cultivées dans la région d'El Oued ,Tizi-Ouzou et souk ahrass respectivement . Est ce que cette plantes peut être remplacez les médicaments synthétisés et les complément alimentaire ?

Ces travaux sont décrits dans le présent manuscrit qui est composé de deux parties.

La première partie, consacrée à l'étude bibliographique, comprend trois chapitres :

Le premier est une description botanique générale des espèces étudiées *Origanum vulgare*,*Origanum majorana* et *Origanum flori bundum* ,

leurs répartitions géographiques et utilisation en médecine traditionnelle.

Le deuxième chapitre donne un rappel sur l'anti- oxydant et activité anti-oxydant

Et le troisième chapitre est un rappel sur le diabète et les enzymes

La deuxième partie expérimentale est axée sur :

- ✚ les testes phytochimique des trois plantes étudiées,
- ✚ l'extraction des extraits et calcul le rendement
- ✚ l'analyses qualitative par CCM à le extraits de trois plantes .
- ✚ Une étude biologique *in vitro* visant à évaluer le pouvoir anti- oxidant et l'activite anti- oxydant par le test du piégeage du radical libre DPPH.
- ✚ Et enfin, la mise en évidence *in vitro* du potentiel anti- enzymatique avec et sans spectrophotomaitre des extraits
- ✚ Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion présentant une synthèse des meilleurs résultats obtenus avec les perspectives envisagées, la liste des références bibliographiques, les annexes et la publication scientifique.

**Partie I :**  
**Synthèse bibliographie**



# **Chapitre I :**

## **Généralité sur l'Origanum**

### I.1. Historique

Le nom «*Origanum*» vient du grec « Oros »= montagne, et « Ganos »= joie, l'origan est donc considéré comme la joie ou l'ornement des montagnes. (Maza Chaffiâa, 2014)

Les égyptiens se servaient de l'*Origanum* pour embaumer leurs morts et apaiser les dieux, tandis que les anciens grecs, dans leur croyance tiennent la plante comme un symbole de joie et couronnent les jeunes mariés avec des sommités fleuries d'*Origanum* ; durant le moyen âge en Pologne, l'*Origanum* était considéré comme protecteur contre les maladies. (Eberhard T., Robert A., Annelise, L., 2005)



Figure 01: Aspects morphologiques d'*Origanum vulgare* (Iserin P, 2001)

### I.2. Classification botanique

Classification d'*Origanum* est présentée d'après Deysson 1967 dans le tableau I.

tableau 01 : La classification botanique d' *Origanum*.

<b>Règne</b>	<i>Plante</i>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Gamopétales
<b>Série</b>	Superovariées tétracycliques
<b>Super ordre</b>	Tubiflorales
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae

<b>Sous-famille</b>	Népétoïdées
<b>Genre</b>	<i>Origanum</i>

### I.3. Description botanique de la famille lamiacée

La famille Lamiacée est l'une des principales famille est celle des Lamiacées, anciennement appelée Labiées (Boulila A., Béjaoui A., Messaoud C. and Boussaid M, 2008), est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres.(DJAHRA A B, 2014)Elle est la plushomogène de la sous classe des Gamopétales, et L'ancien nom des Lamiacée : Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles.(CAILLAUD M A, 2013) Elle est contient énormément importantes plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle et moderne et dans les industries alimentaires et pharmaceutiques, le Romarin, le Thym, l'Origan et la Sauge, ce sont les plantes plus populaires dans les remèdes traditionnels .(NIETO G, 2017)

**Les feuilles** de cette famille sont opposées décussées , simples , parfois composées ,les tiges sont carrées , certaines espèces sont dressées , d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées (LABIOD R, 2016) , **Les inflorescences** formées par de faux verticilles axillaires ou glomérules proviennent de la réunion de 2 cymes bipares.(CAILLAUD M A, 2013) **les fleurs** typiquement zygomorphe à deux lèvres , plus rarement à un lèvre , parfois à symétrique radiaire (MARTIN ., 2014) , sont mauves relativement petites , la longueur de 5 à10 mm (AGYAKWA et al ., 2014) , **les fruits** sont untétrakènes.(AYAIDIA B, 2011)

### I.4. Présentation et description botanique de genre *origanum*

Le genre *Origanum* est une plante frutescente appartenant à la famille des lamiacées qui comporte environ 38 espèces, répandues dans les régions méditerranéennes, Euro Sibérienne et d'Irano Sibérienne. Plus 75%, d'*Origanum*se trouve autour des régions de l'estméditerranéen.(Sahin, F., Gulluce , M. , Daferera, D., Sokmen , A., Sokmen, M., Polissiou,M.Agar, G.et Ozer, H, 2004)Le genre *Origanum* a été complètement remanié par J. H. Ietswaart en 1980 qui divisé en 3 groupes, 10 sections , regroupant au total 38 espèces :avec 6 sous-espèces et une autre avec 3 variétés et 17 hybrides naturels (ALLARD., 2015) .

La classification de Ietswaart basé sur les caractères morphologie ( longueur de la tige ,nombre des branches , forme des feuilles)(CAILLAUD M A, 2013).

## I.5.Répartition géographique de genre origanum

### I.5.1.Dans le monde

Les membres du genre *origanum* définis par Ietswaart sont distribués principalement dans la région méditerranéenne , avec plus de 81 pourcent situés exclusivement dans la région est méditerranéenne. Même si la distribution la plus importante , des cultures peuvent être retrouvées a cube , ou encore a la réunion .(CAILLAUD M A, 2013)



**Figure 02 :** Aire de distribution du genre *origanum*.(ZENSANI L, 2014).

### I.5.2.En Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales au regard de sa superficie et de sa diversité bioclimatique. L' *Origanum* de la famille des Lamiacées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jus qu'aux zones arides (SAIDJ, 2007). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement.elle est représentée par trois espèces spontanée phylogénétiquement:

- *Origanum majorana* et *Origanum vulgare ssp glandulosum Desf* en démique Algéro-tunisienne
- *Origanum floribundum* en démique Algérienne .



## I.6. Distribution géographique et description botanique de quelque espèce du genre *Origanum*

### I.6.1. *Origanum majorana* L (*O. majoranoides* ,*Majoranahortensis*) :

#### I.6.1.1. Distribution géographique

Le nom vernaculaire : Mardkouch ,*Marjolaine vraie* , Marjoram (*Majoranahortensis* Moench) ,*Marjolaine douce* est une plante poussée en sud d' Europe, nord d' Afrique et Turquie (FATHY M., 2009) , est une arbuste sensible au froid (DIPALI S., SHIV KUMAR J, KAMAKSHI S., KRATIKA N., 2016), a une odeur pénétrante et agréable à saveur chaude et aromatique. (CHACHA H ., MAYOU H, 2015).

#### I.6.1.2. Description botanique

elle forme des touffes de 20 à 40 Cm de haut , assez ramifiées , aux feuilles ovales , petites , tendres et velues . ses fleurs minuscules , blanches ou rosées sont groupées en corymbes , son parfum est si puissant qu' il suffit de passer la main sur une touffe pour qu' une agréable odeur se repande alentour



**Figure03:** Présentation d'*Origanum majorana*

**I.6.1.3. Composition chimique d'*Origanum majorana* L (O. majoranoides ,Majoranahortensis)**

L'origanum majorana contient des coumarines ,flavonoides , sucre ,tannin , steroïdes et les huiles essentielles. (SANJU B., SANJU D .,PINDER P, 2016)

**I.6.1.4. Utilisation d' *Origanum majorana* L (O. majoranoides , Majoranahortensis)**

En usage traditionnel on lui reconnaît la vertu de soigner les coryzas et les rhumes sous formes de fumigations et d'infusion et les rhumes sous formes de fumigations et d' infusion et les otites sous formes de macérations huileuse en outre elle est préconisée contre les migraines . l' anxiété , les insomnies , la neurasthénie et les spasmes digestifs .

**I.6.2. *Origanum vulgare*****I.6.2.1. Distribution géographique**

Cette espèce sont appelées localement "zaatre" , ce sont des plantes vivaces chaméphytesest une plante pousse spontanément dans le nord de l'Afrique ; elle est endémique enAlgérie et en Tunisie en particulier dans les montagnes(BEKHECHI C, 2008)

**I.6.2.2.Description botanique d'*Origanum vulgare***

Cette plante est une herbacée vivace de 30 à 60 cm de hauteur, au feuillage et aux fleurs très odorants quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (Arvy et Gallouin, 2003 ; Teuscher et al., 2004).

Les tiges dressées, souvent rougeâtres et velues, portent les feuilles ovales opposées et espacées. Celles-ci possèdent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes. Les fleurs blanches ou rose sont groupées en inflorescences.(BOUHADDOUDA N.AOUADI S., LABIOD R, 2016) Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, et dépassant le calice. Ce calice est lui-même en tube gamosépale et persistant .La corolle, plus grande que le calice, est quant à elle bilabée à tube saillant à la base et gamopétale. Le fruit est constitué d'akènes. La floraison se prolonge de mai à octobre .(Baba Aissa F, 2000).



**Figure 04:** Présentation *Origanum vulgare*

### **I.6.2.3. Composition chimique d'*Origanum vulgare***

L' *Origanum vulgare* comportent les flavonoïdes , les terpènes ,les tanins caté chiques les anthocyanes et les saponosides.(BOUHADDOUDA Nabila, 2016)

### **I.6.2.4. Utilisation d' *Origanum vulgare***

En Algérie , communément appelé "zaàter" elle est une plante essentiellement médicinale qui jouit d' une grande ferveur populaire (Baba Aissa, F., 2011) et utilisée comme tisane par la population locale pour guérir plusieurs maladies telles que : rhumatismes ,1 toux , rhume et troubles digestifs.(Mahmoudi R., Nosratpour S., 2013)

## **I.6.3. *Origanum floribundum***

### **I.6.3.1.Distribution géographique**

Plante endémique et rare Algérienne ; pousse spontanément au nord Algérien. Auxpelouses des clairières, dans la cédraie de Chréa vers 1600m alt., Atlas de Blida et de la grande kabylie(Quezel et Santa, 1962)

### **I.6.3.2.Description botanique d'*Origanum floribundum***

*Origanum floribundum* est un plante de 3-5 déci maitre , velue – cendrée ; ils sont jeunes pousses décombantes ; les tiges sont floriféresax en dantes , les feuilles sont ovoïdes ou orbiculaires , entieres ou un peu crénelées , petites , velues ; épis grêles , lâches allongés , formant une panicule pyramidale .



**Figure 05 :** Présentation *Origanum floribundum*

#### **I.6.3.3.Composition chimique d'*Origanum floribundum***

*Origanum floribundum* est composée a mono terpénoïdes ,ses qui terpénoïdes , le carvacrol était le composant principal et les huiles essentielles.(Haloui, M., Louedec, L., Michel, J.B, Lyoussi, B., 2000)

#### **I.6.3.4.Utilisation d' *Origanum floribundum***

*Origanum floribundum* est une plante essentiellement médicinale qui jouit d' une grande ferveur populaire (Baba Aissa F, 2000) et utilisée comme tisane par la population locale pour guérir plusieurs maladies telles que : rhumatismes , toux , rhume et troubles digestifs. (Mahmoudi S., Khali M. and Mahmoudi N., 2013)



# **CHAPITRE II**

## **Activité antioxydant**

**II. Activité anti-oxydants**

**II.1. Antioxydants**

**II.1.1. Définition**

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d’inhiber l’oxydation de ce substrat biologiques.(BOUHADDOUDA Nabila, 2016)

Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion.(Boudjouref Mourad, 2011)

**II.1.2.Types d'antioxydants**

Les antioxydants sont classés selon les caractères suivant :

**II.1.2.1.Anti oxydants naturels**

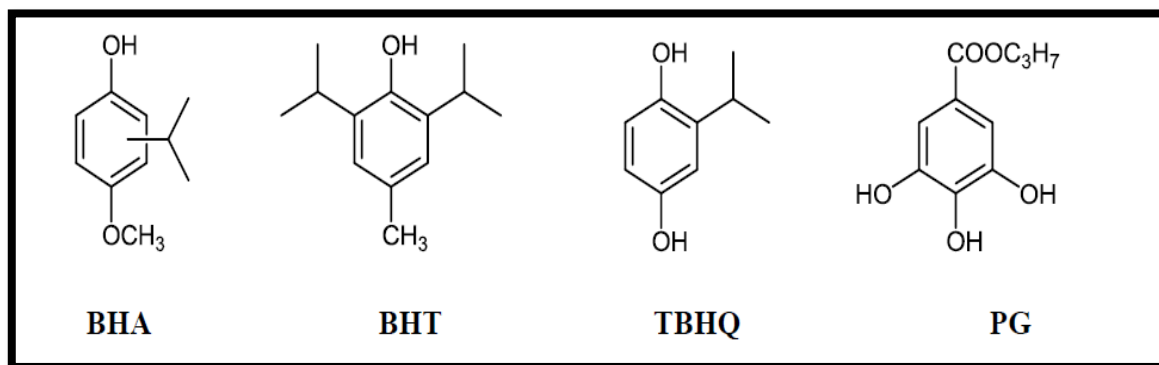
Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydant in vivo. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres.(ABBES Amal, 2014).

**Tableau 02:** Principaux antioxydants naturels et sources alimentaires associées.(MANALLAH Ahlem, 2012)

<b>Principaux nutriments antioxydants</b>	<b>Sources alimentaires</b>
Vitamine C	Agrume , melon , brocoli , fraise , kiwi , chou , poivron .
Vitamine E	Huile de tournesol , de soja, de maïs beurre , œufs , noix .
b-carotène	Légumes , et fruits orangés , et vert foncés .
Sélénium	Poisson , œufs viandes céréales , volailles
Zinc	Viande , pain complet , légumes vert ,huitres ,produits laitiers
Flavonoides	Fruits , légumes ,thé vert .
Acide phénolique	Céréales complètes ,baies , cerises
Tanins	Lentilles ,thé , raisins , vin .
Métabolisme de cystéine , glutathion	Caséine , lactalbumine (petit – lait ) , produits laitiers brocoli ,chou œuf ,poissons viandes .

### II.1.2.2. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants de synthèse les plus connus sont les composés phénoliques tels que : Hydroxyanisolebutylé (BHA), Hydroxytoluènebutylé (BHT), tert-butylhydroquinone (TBHQ) et Gallate de propylée (GP). Les antioxydants synthétiques sont toujours substitués par un alkyle pour améliorer leur solubilité dans les graisses et les huiles (FERHAT.M, 2016) .



**Figure 06:** les structures moléculaires d'antioxydants synthétiques .

### II.1.2.3. Substances synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants. Ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection, parmi eux se trouvent : Les acides lactique, tartrique et ortho phosphorique et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants.

### II.1.3. Mode d'action des antioxydants

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés de phénols .

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de position appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (LANSEUR.R, 2017)

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que

celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras .tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Cillard, 2006) .

### II.1.4.Utilisation des antioxydants

- **Dans l'industrie chimique** : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- **Dans l'industrie agro-alimentaire** : pour éviter le rancissement des corps gras.
- **Dans l'industrie teinturerie** : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture.(BOURAS Fatima Zohra et HOUCHI Abdelbasset, 2013)

### II.1.5. Toxicité des antioxydants

Les premières indications des effets possibles des antioxydants sur la santé datent des années 1970, alors que des chercheurs ont constaté que l'incidence réduite de certains cancers et de maladies coronariennes allait pair avec une diète riche en fruits, légumes et herbes. Or, il s'avère que ces végétaux regorgent d'antioxydants .(Berger, M., and Que, Y., 2009)

L'intégration de molécules d'antioxydants à des denrées alimentaires constitue tous de même un défi. On reconnaît la fragilité à la chaleur de la vitamine C, qui est par ailleurs l'un des plus puissants antioxydants.(Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. & Prost M., 2001)

L'ajout de vitamine E peut également poser des problèmes si on n'a pas prévu un emballage qui prévient l'oxydation par la lumière. De plus la surconsommation d'antioxydants peut entraîner une déficience des systèmes naturels de protection de l'organisme (système immunitaire) et cela peut nuire la santé en altérant de nombreuses fonctions vitales. Certains antioxydants sont responsables aussi à des réactions allergiques, des hypersensibilités, des troubles digestifs, etc. **(ROBERFROID, 2002).**

Selon **Alais et al.** (2003), les produits de synthèse ont été beaucoup étudiés sur le plan de la toxicologie chez l'animal. Des résultats variant avec les espèces ont été donnés: effet sur les poumons, le foie, la thyroïde, la coagulation sanguine ou l'action cancérigène. On ne peut pas extrapoler à l'homme, mais on est porté à réduire leur emploi dans l'alimentation humaine.(ABBES Amal, 2014)

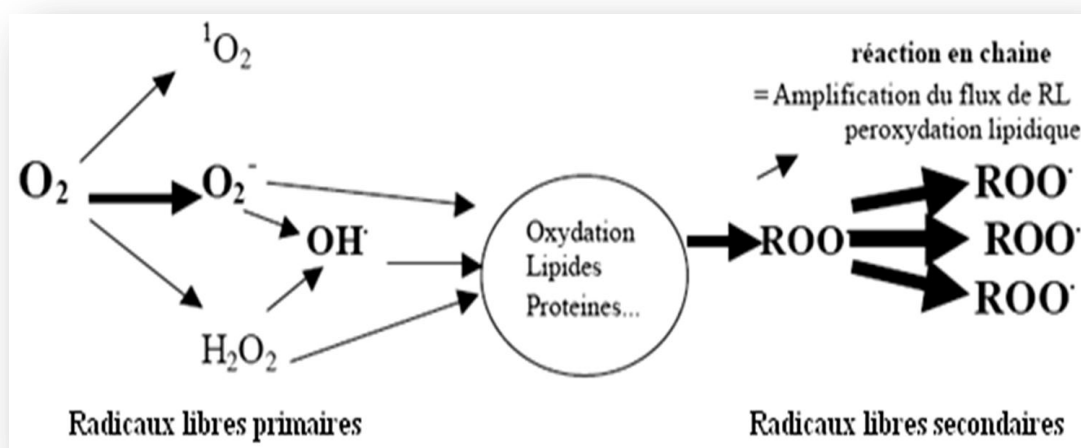
## II.2. Activité anti-oxydante

### II.2.1 Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. (Dacosta Y., 2003) Ces radicaux libres comprennent les espèces réactives oxygénées (ERO), les espèces réactives d'azote (ERN) et les espèces réactives de soufre (ERS) (Taofiq O. M., 2016).

#### II.2.1.1. Différents types des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer deux grandes classes de radicaux libres: les radicaux libres primaires, directement formés à partir de l'oxygène et les radicaux libres secondaires ou organiques générés par l'action des radicaux libres primaires (Binov L., 2001.), comme est représenté dans la figure suivante :



**Figure07** : Les formes d'actives de l'oxygène dans la cellule (Binov L., 2001.)

#### II .2.1.1.1. Radicaux libres primaires

Les radicaux libres primaires sont les plus dangereux car ils sont directement formés à partir de (Reichl F.X., Benecke J., Benecke M., Eckert K.G., Erber B., Golly I.C., Kreppel H., Liebl B., Muckter H., Szincz L. & Zilker T., 2004.) L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ERO). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit : radical super oxyde ( $O_2^\circ$ ), radical hydroxyl ( $OH^\circ$ ), monoxyde d'azote ( $NO^\circ$ ) mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs nonradicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singul et ( $\frac{1}{2} O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxydinitrite ( $ONOO^-$ ). (Favier A., 2003.)

**II.2.1.1.2. Radicaux libres secondaires**

Ils ne sont pas formés spontanément, ils sont formés par l'action d'un radical libre primaire sur un composant cellulaire (acides nucléiques, lipides membranaires, protéines). Ce sont les radicaux alkoxy ( $RO^\circ$ ) et peroxy ( $ROO^\circ$ )- qui se forment lors du métabolisme d'un certain nombre de substances étrangères (xénobiotiques). Ainsi, des composés tels que le 1,2-dibromométhane (additif présent dans l'essence), ou le paracétamol peuvent être métabolisés en radicaux libres, et être ainsi la cause de lésions dans l'organisme. (Reichl F.X., Benecke J., Benecke M., Eckert K.G., Erber B., Golly I.C., Kreppel H., Liebl B., Muckter H., Szinicz L. & Zilker T., 2004.)

Au niveau de la cellule, il est très important de contrôler la production de radicaux libres primaires essentiellement  $O_2^\circ-$  et  $H_2O_2$ . En effet, cela entraîne une production moins importante de radicaux libres secondaires et donc par conséquent une protection des constituants cellulaires et un maintien de l'activité biologique de la cellule. (Binov L., 2001.)

**II.2.1.2. Rôle des radicaux libres****II.2.1.2.1. Rôle des radicaux libres chez l'homme**

Les mécanismes d'action principaux des ERO sont alors de déclencher ou d'amplifier un signal intracellulaire par deux mécanismes principaux (par modification de l'équilibre redox intracellulaire et par modification oxydative des protéines). Les ERO sont également à l'origine de l'action bactéricide par les leucocytes. (Delattre J., Beaudoux J.L. & Bonnefont-Rousselot D., 2005.)

**II.2.1.2.2. Rôle des radicaux libres chez les plantes**

Les ERO sont continuellement produites chez les plantes selon le métabolisme aérobie. En fonction de leur nature, certaines, très toxiques, sont rapidement détoxifiées par divers mécanismes enzymatiques et non-enzymatiques.

Alors que les végétaux génèrent pléthore de processus pour combattre la croissance des ERO produites dans les conditions de stress abiotique (chocs thermiques, irradiation excessive, couche d'ozone, sécheresse, salinité...), dans d'autres circonstances, ils peuvent tout aussi engendrer délibérément des ERO au titre de molécules signal afin de contrôler de nombreux phénomènes comme la défense contre des pathogènes (stress biotique), la mort cellulaire programmée (apoptose) et le comportement stomatique. (BOUCHOUKA.E, 2016).

**II.2.2. stress oxydatif**

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses anti-oxydante (Taofiq O. M., 2016)

Autrement dit, Si la capacité de l'organisme à neutraliser les radicaux libres s'exécède, ils peuvent conduire à l'apparition de plusieurs maladies, dont les maladies cardiovasculaires, certains types de cancers et d'autres maladies associées au vieillissement (Wollinger, 2016)

### II.2.2.1. Marqueurs biologiques de stress oxydant

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. La mise en évidence des dérivés de l'oxydation de ces différents substrats seront donc des marqueurs de la présence d'un stress oxydant.(KHOLKHAL. F, 2014)

**Tableau 03** : Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée.(KHOLKHAL. F, 2014)

Cible	Produits	Exemples
Protéine	Protéines oxydées	Groupes carbonyle, tyrosine hydroxylée
ADN	ADN oxydé	8-hydroxy-2déoxyguanosine
Lipides	Lipide peroxydés	Malondialdéhyde (MDA) ,isoprostanes

### II.2.2.2. Maladies liées au stress oxydatif

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré, Alzheimer, Parkinson, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose, le diabète (Atawodi S. E., 2005,);(Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V., 2003)

### II.2.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire (MUELLER.M, 2004)

- Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives.

- Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante décomposée, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants.

- Une des méthodes utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince. (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (Li peiwu, 1999).

En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydant, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydant.

La génération de radical libre est reliée avec l'oxydation dans les aliments et les systèmes biologiques.

- Les méthodes principales comportent, le balayage des radicaux de superoxyde ( $O_2^\circ$ ); le balayage de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ); le balayage d'acide hypochloreux (HOCL); le balayage du radical d'hydroxyle ( $HO^\circ$ ) ou le balayage du radical du peroxyde ( $ROO^\circ$ ).

- Parmi ces méthodes, la méthode de PIEGE Antioxydants et activité antioxydante (paramètre total d'antioxydant de radical en piégeage (*Brasseur et al, 1995*); la méthode d'ORAC (capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (*Cao et al, 1993*); la méthode d'ABTS (le balayage du radical 2,2-azobis-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate) (; le balayage du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (la méthode du radical DPPH $^\circ$ ), la méthode de DMPD (le balayage du radical N,N'-p-di-méthyl-phenylènediamine) (*Li et al., 1994*) ou la méthode de Photochimiluminescence (PLC)



# **CHAPITRE III**

## **Activité anti- enzymatique**

---

### III. Activité anti – enzymatique

#### III.1. Diabète

##### III.1.1.Définition

Le diabète sucré est une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie chronique (taux de sucre dans le sang trop élevé appelé glycémie) , , soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l (7mmol/l) à deux reprises, soit une hyperglycémie supérieure à 2g/l (11,1mmol/l) à n'importe quel moment de la journée (même après un repas)(maza .ch; 2014 ),et soit une hyperglycémie supérieure à 2g/l (11,1mmol/l)après une hyperglycémie par voie orale HGPO a 75 g (bengazel . h .2018), consécutive d'une sécrétion insuffisante d'insuline (diabète insulino-dépendant, ou type I) ou d'une carence ou mauvaise utilisation de l'insuline (diabète non insulino-dépendant, ou type II).(Jacques et al., 2007).

##### III.1.2.Classification du diabète

Le comité international d'experts présente une nouvelle classification étiologique des diabètes sucrés, cette classification est actualisée en fonction des données scientifiques récentes. On distingue deux types majoritaires: le diabète de type 1, le diabète de type 2 et des types minoritaires, diabète gestationnel et autres types spécifiques.( HADJ MOUSSA ,A, 2012)

##### III.1.2.1.Diabète de type 1

Le diabète de type 1 « insulino-dépendant» affecte un nombre croissant de personnes dans le monde. Cette pathologie causée par la destruction sélective des cellules  $\beta$  pancréatique par le système immunitaire(Vieira Andhira , Druelle Noémie , Courtne Monica , Avolio Fabio , Ben-Othman Nouha , Pfeifer Anja , Gjernes Elisabet, Faurite Biljana, Collombat Patrick, 2013).Par conséquent ces patients doivent recevoir des injections quotidiennes d'insuline pendant toute leur vie(Thorel Fabrizio ,Herrera Pedro L., 2010).

##### III.1.2.2.Diabète de type 2

Le diabète de type 2 « non insulino-dépendant» est la forme la plus fréquente du diabète. Cette maladie se manifeste lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas efficacement l'insuline qui est produite, Il peut se manifester chez les enfants et les adolescents, mais il apparaît habituellement après l'âge de 30 ans et devient plus fréquent aux âges plus avancés (Millar Wayne J. ,Young T. Kue ,, 2003).

##### III.1.2.3. Autre type de diabètes

Parmi les autres types de diabètes, on cite :

Le diabète gestationnel qui correspond à un trouble de la tolérance glucidique apparaissant entre la 24ème et la 28ème semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement (Rodier, M., 2011).

Le diabète MODY (Maturity-On set Diabetes of the Young) est un diabète d'hérédité autosomale dominante. Il s'agit d'un diabète non Insulinodépendant survenant avant l'âge de 25 ans, parfois même dans l'enfance (Jenkins, A.B., Campbell, L. V., 2004).

### III.1.3. Diagnostic

Les spécificités physiopathologiques expliquent la variabilité des signes cliniques, propres à chacune de ces complications. Il existe néanmoins des symptômes communs, dont les plus évocateurs, à leur phase initiale, sont la polyurie et la polydipsie qui témoignent de l'installation de l'hyperglycémie et de ses conséquences sur la volémie corporelle (Radermacherl, D'ORIO V., 2005).

Au niveau du contrôle des constantes biologiques, on remarque une hyperglycémie à jeûne et une glucosurie. L'examen chez les patients est basé sur la mesure de la glycémie à jeûne et le test de l'hyperglycémie provoquée par voie orale. Chez les quelles leur glycémie à jeûne élevée, augmente encore une heure après l'administration orale de 75 g de glucose dissous dans 250 ml d'eau. Cette hyperglycémie ne retrouve pas sa valeur basale après 3 heures de suivi (Tableau 04). (Goetz .P., 2007)

**Tableau 04:** Taux de la glycémie au cours de test du l'hyperglycémie provoquée par voie orale (Goetz .P., 2007).

Pathologies	Glycémie à jeune	Glycémie après 2 heures	Taux intermédiaire (entre repas)
Normale	< 6,3 mmol/l	< 7,7 mmol/l	< 11 mmol/l
Diabète Gestationnel	> 5,8 mmol/l	> 9,2 mmol/l	> 10,6 mmol/l à +1H > 8,1 mmol/l à + 3H
Diabète gras	> 7,7 mmol/l a deux reprises	> 11 mmol/l	> 11 mmol/l
Intolérance au glucose	6,3 à 7,7 mmol/l	7,7 à 11 mmol/l	> 11 mmol/l

### III.1.4. Complications de diabète

La gravité du diabète provient essentiellement de ses complications, à long terme, qui sont sources d'handicaps, d'incapacités et d'une altération de la qualité de vie. Les complications du diabète sont de deux types : complication aiguë et chronique (microvasculaires et

macrovasculaires). Le diabète de type 2 peut rester long temps ignoré, il n'est pas rare que le diagnostic du diabète soit fait devant l'une de ces complications.

### III.1.5. Traitements du diabète

Le traitement du diabète (type 1 ou 2) repose principalement sur l'alimentation, l'exercice physique et les traitements médicaux : médicaments par voie orale ou injectable (insuline). Il est mis à la disposition du diabétique un grand nombre de médicaments dont les principes actifs agissent par différents mécanismes pour réguler la glycémie (**Tableau 2**). Par exemple; la stimulation de la sécrétion de l'insuline, le ralentissement de la digestion des sucres « carbohydrates » ou encore l'inhibition de l'absorption intestinal du glucose alimentaire.(Tielmans Amélie, Laloï-Michelin Marie, Coupaye Muriel , Virally Marie , Meas, 2007).,(Grimaldi.A, Hartemann.A, Heurtier, Jacqueminet.S, Bosquet.F, Masseboeuf.N, Halbron. M, Sachon.C ,, 2009).,(Charbonnel.B., 2010).

**Tableau 05:** Quelques médicaments anti diabétique actuellement commercialisés.

(Grimaldi.A, Hartemann.A, Heurtier, Jacqueminet.S, Bosquet.F, Masseboeuf.N, Halbron. M, Sachon.C ,, 2009);(Charbonnel.B., 2010);(Tielmans Amélie, Laloï-Michelin Marie, Coupaye Muriel , Virally Marie , Meas, 2007)

Famille du médicament	Nom générique (nom commercial)	Mode d' action
Biguanides	Metformine glucophage® metformine à libération prolongée (glumetza®)	Diminution de la production hépatique de glucose
Sulfamides hypoglycémiantes	Gliclazide (diamicron®) gliclazide( diamicron®mr) Glimépiride (amaryl® ) glyburide (diaβ eta ® )	Stimulation de la sécrétion résiduelle d' insuline par un mécanisme bien identifié en se liant à un récepteur des sulfamide sur la celluleβ
Inhibiteurs des αglucosidases	Acarbose( glucobay® )	Ralentissement de la digestion des glucides dans l' intestin . le glucose passe plus lentement dans le sang

Glitazones thiazolinediones	ou Pioglitazone(actos®) )rosiglitazone (avandia®)	Amélioration de la sensibilité à l'insuline , au niveau du foie , du muscle et du tissu adipeux
Gliptines (inhibiteur de dppiv )	Sitagliptine (januvia®) )vilagliptine (galvus )	Augmentation du taux du GLP7 en bloquant sa dégradation .
Agoniste du glp 1	Exénatide (byetta® )exénatide à libération prolongée (bydureon®)	Ptentialisation de l' insulino sécrétion provoqué par l' hyperglycémie et freinage de la sécrétion de glicagon

### III.1.6. Diabète et les enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques caractérisés par la spécificité d'action et de substrat. Ils accélèrent la vitesse d'une réaction, et fait intervenir la formation d'un complexe enzyme-substrat.

- **Enzymes de digestion « $\alpha$ -amylase »:**

les $\alpha$  amylases sont synthétisées par le pancréas et les glandes salivaires (Beaudeau Jean-Louis, Durand Geneviève, 2008). Ces enzymes catalysent l'hydrolyse des oligo- et polysaccharides « glucides alimentaires » non absorbables en monosaccharides absorbables au niveau de l'intestin.

Des chercheurs ont développé des inhibiteurs de ces enzymes dans le but de ralentir l'absorption des glucides dans l'intestin donc le glucose passe plus lentement dans le sang, réduisant ainsi l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie postprandiale (Rabasa-Lhoret Rémi, Chiasson Jean-Louis, 2000). La phaséolamine est un inhibiteur de l'activité alpha amylase (Lager P. et al., 1987).

### III.2. $\alpha$ amylases

L' $\alpha$ -amylase est responsable de la dégradation des hydrates de carbone au niveau de l'intestin grêle. Cette dégradation permet l'absorption du glucose et fait augmenter la glycémie. De ce fait, l'inhibition de cette enzyme permet une limitation de l'augmentation de la glycémie postprandiale. (Goetz P., 2007).

#### III.2.1. Définition (KEATING L., KELLY C., FORGARTRY W., 1998)

L' $\alpha$ -amylase [ $\alpha$ -(1,4)-D-glucanoglucanohydrolase (E.C.3.2.1.1)] est une endoenzyme appartenant à la famille des hydrolases (MERCIER C., 1985) et. Elle hydrolyse au hasard, les liaisons osidiques de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon, du glycogène et d'autres

---

polysaccharides contenant plus de trois liaisons  $\alpha(1,4)$  D-Glucose (AIT KAKI- EL-HADEF EL-OKKI H., LEGHLIMI S., DAKHMOUCHE L., BENNAMOUN., Z MERAIHI., 2012).

Chez les mammifères, l' $\alpha$ -amylase est présente principalement dans les sécrétions salivaires et pancréatiques. Celle d'origine microbienne (bactéries, moisissures et levures) est exo cellulaire, exceptées certaines espèces comme *Bacillus subtilis* et *Pishiaburtonii* (MOULIN G et GLAZY P., 1978) et (MANTSALA P et ZALKIN H., 1979).

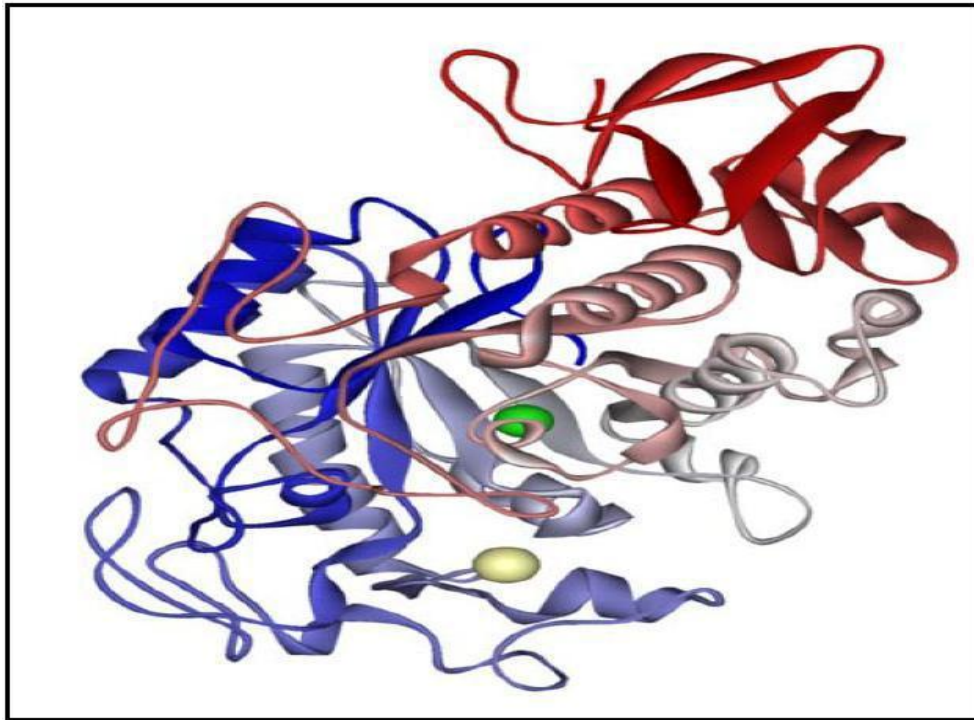
Bien que l' $\alpha$ -amylase de différentes origines ait très peu de séquences d'acides aminés identiques, leur structure tridimensionnelle et l'organisation de leur site actif sont similaires (MERCIER C., 1985). La valeur normale est inférieure à 90 UI/L dans le sang (COOLBEAR T., DANIEL R.M., MORGAN H.W., 1992).

### III.2.2. structure

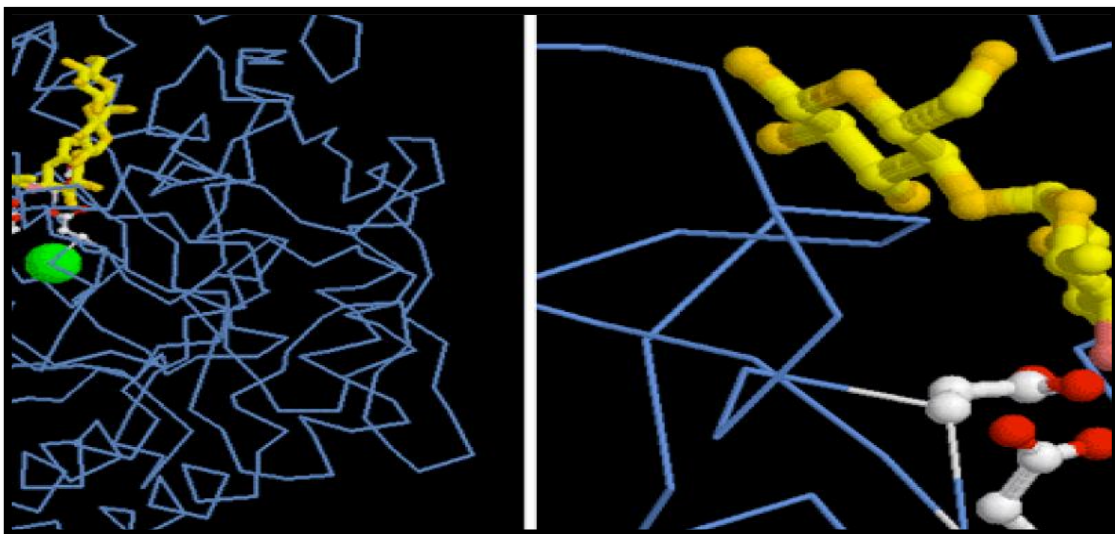
Les  $\alpha$ -amylases sont des enzymes monomériques, de poids moléculaire variant entre 41 et 78 kDa. Leurs structures tridimensionnelles ont toutes en commun un domaine catalytique central formé par un tonneau ( $\beta/\alpha$ )<sub>8</sub> appelé aussi « *TIM Barrel* » (Banner, D. W., Bloomer, A. C., Petsko, G. A., Phillips, D. C., Pogson, C. I., Wilson, I. A., Corran, P. H., Furth, A. J., Milman, J. D., Offord, R. E., Priddle, J.D., and Waley, S. G., 1975).

Les  $\alpha$ -amylases sont également considérées comme des glycoprotéines renfermant 478 acides aminés répartis en 2 domaines globulaires appelés A (1-380 résidus) et B (381 - 478 résidus). Ces domaines sont associés par une chaîne polypeptidique constituée principalement de résidus hydrophobes (figure 08 ). Les résidus constituant le site de fixation du substrat ainsi que ceux constituant le site catalytique sont localisés dans le domaine A qui montre que l' $\alpha$ -amylase est formée de 8 feuillets  $\beta$  plissés et de 8 hélices  $\alpha$  (Chiba S., 1988); (Burhan A., Unaldi N., Coral G., Colak O., Aygan A., Gulnaz O., 2003).

Le site actif d' $\alpha$ -amylase contient trois groupements d'acides aminés (de couleur blanche et rouge) qui agissent ensemble pour cliver la liaison entre deux sucres dans une chaîne d'amidon, c'est le glutamate (233) et l'aspartate (197, 300). Cette structure contient une courte chaîne de cinq unités de sucre (de couleur jaune et orange) lié dans le site actif. (PDB (protein data base), 2006)



**Figure 08:**Diagramme de structure de l' $\alpha$ -amylase humain présente les trois domaines (rose et gris: domaine A; bleu le domaine B, rouge domaine C) avec l'ion chlorid (vert) et l'ion calcium (jaune).(PDB (protein data base)., 2006).



**Figure 09:**structure et le site catalytique de l' $\alpha$ -amylase.

Le site de clivage en rose. Un ion calcium, la sphère grise, se trouve à proximité, un ion chlorure montré la sphère verte,(PDB (protein data base)., 2006).



### III .2. 3. Mécanisme d'action

L'activité catalytique de l'enzyme impliquée la participation des trois acides aminés du site actif : Asp 231 (nucléophile catalytique), Glu 261(donneur catalytique de l'hydrogène) et Asp328 (l'aide de catalyse) (MC CARTER J.D AND WITHERS S.G., 1996)et(UITDEHAAG J.C.M., MOSI R. KALK K. H., VANDER VEEN B. A. DIJKUIZEN L.,WITHERS S.G ET DIJKSTRA B.W., 1999).

En effet, la réaction catalytique est réalisée en trois étapes:

**1.** Prolongations de l'oxygène glucosidique par le donneur de proton Glu 261 suivi d'une attaque nucléophile sur C1 du résidu du sucre en position 1 par Asp 231 et le départ de l'extrémité réductrice du substrat (DAVIES *et al.*,1999).

**2.** Activation d'une molécule d'eau, vraisemblablement par le maintien du Glu 261 de protonné (NIELSON *et al.*, 2001).

**3.** Régénération de l'état initial et libération de l'autre fragment du substrat, par hydrolyse du lien covalent entre l'oxygène nucliophile de l'Asp 231 et le C1de résidu du sucre en position1 (NIELSON *et al.*,2001 et BENAOUIDA., 2008) (figure: 3).

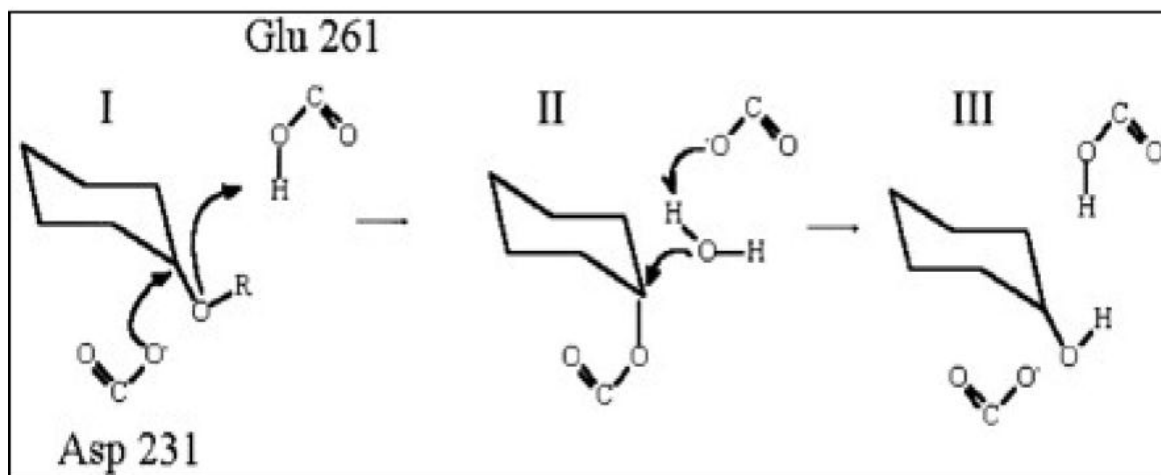


Figure 10: Mécanisme catalytique (MERABTL., 2006).

### III.2.4. L'inhibition d'alpha amylase

L'inhibition des  $\alpha$ -amylases ont un potentiel thérapeutique pour le traitement de l'obésité et du diabète non insulino-dépendant (Gerrard *et al.*, 2000). Les niveaux de glucose des diabétiques peuvent être contrôlés après des repas par l'administration d'un inhibiteur d'amylase tel que l'acarbose. Il peut ainsi se lier aux sites des  $\alpha$ -glucosidases de la bordure en brosse intestinale et l' $\alpha$ -



---

amylase pancréatique, inhiber puissamment, de façon compétitive et dose-dépendante (Scheen et al., 2002).

Il est intéressant que certains plantes qui ont une activité inhibitrice enzymatique inclue les composés poly phénoliques et glyco-protéiques(Tundis et al., 2010). Comme les anthocyanines et ellagitannins présent dans la framboise et les fraises sont des inhibiteurs de l'activité d' $\alpha$ -glucosidase et  $\alpha$ -amylase, respectivement. (Mcdougall et al., 2005). L'activité enzymatique de l'  $\alpha$ -amylase n'est pas modifiée par les ions  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $NH_4^+$  mais elle est fortement inhibée par l'EDTA et les métaux lourds(Igarashi et al., 1998 ; Talamondet al; 2002 ).

### III.3. Lipases

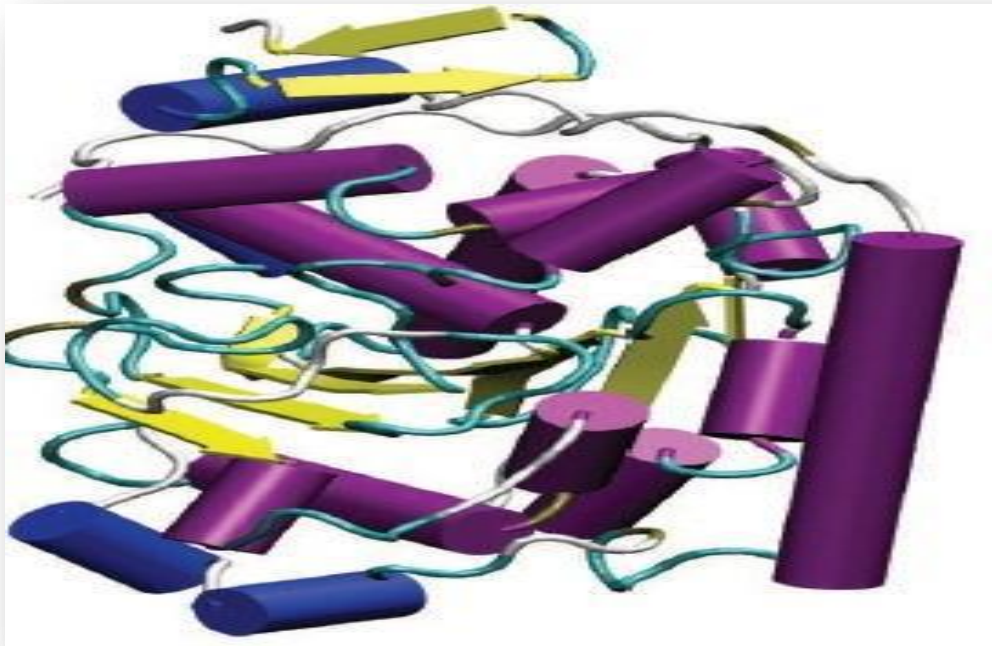
#### III.3.1. Définition

Les lipases (EC.3.1.1.3) appartiennent à la famille des hydrolases d'esters carboxylique ; leur rôle physiologique est d'hydrolyser les triglycérides en di glycérides mono glycérides, et acides gras et glycérol (Chaib, 2013 ; Mtibaa et al., 2002).

Le lipase est une glycoprotéine principalement sécrétée par le pancréas . elle est présente en faible quantité dans la muqueuse gastrique .

#### III.3.2. Structure

La structure des lipases a été déterminée par cristallogénèses et diffraction des rayons x (Najjar, 2010). Toutes les lipases connues à ce jour présentent une organisation tridimensionnelle commune composée d'un feuillet bêta centrale formée de huit brins parallèles connectés entre eux par des hélices alpha (Najjar, 2010).



**Figure 11:Structure dimensionnelle d'hélice (site active d'une lipase) .Le feuillet beta en jaune, les hélices alpha en violet, les hélices alpha 3<sub>10</sub> en bleu, et les motifs 'turn' en cyan (chaput, 2012).**

### **III.3.3. Source des lipases**

Vu leur rôle biologique de dégradation hydrolytique des huiles des graisses naturelles .Tels que des plantes et des mammifères .Des nombreuses lipases sont produit par des bacteries ou des champignons et sont secrétées en tant qu'enzymes cellulaires , ce qui permet leur production à grande echelle .(toufik taalibiboukerche).

### **III.3.4 Mode d'action des lipases**

Le site actif des lipases est généralement recouvert d'une boucle peptidique formée par une hélice à amphiphile et d'une quinzaine d'acide aminés qui agit comme un volet ; lorsque l'hélice alpha recouvre le site actif l'enzyme, il est donc dans sa forme fermée ou inactive (**Fickers et al., 2008**).

Dans la forme active ou ouverte de l'enzyme, suite au mécanisme d'activation inter faciale, il y'a un déplacement de l'hélice constituent le volet, la face hydrophobe de l'hélice orientée au pare avant vers l'intérieur du site actif s'expose au solvant créé une surface hydrophobe supposée

interagir avec l'interface eau/corps gras. Le site actif de l'enzyme est dès lors accessible aux substrats (**Reis et al., 2008**). Les analyses cristallographiques ont mis en évidence l'absence de hélice amphiphile recouvrant le site actif ; ces lipases sont classées comme étant des estérases bien qu'étant capables d'hydrolyser des triglycérides à longues chaînes d'acides gras insolubles en phase aqueuse (**Scharg et Cygler, 1993**).

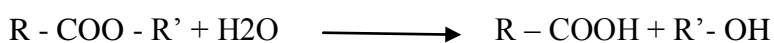
Certaines autres lipases mettent en œuvre des activités très complexes avec l'intervention d'une Co lipase pour assurer la fixation de l'enzyme sur le substrat, le mécanisme d'activation interfaciale est dans ce cas sujet à controverse ; Ce système est activé dans l'eau avant de rejoindre l'interface (**Fickers et al., 2008**).

### III.3.5. Types des lipases

Les lipases possèdent plusieurs types catalysant un grand nombre de réaction allant de l'hydrolyse à l'estérification sans oublier les réactions d'alcoolyse et d'acidolyse (**Rihani, 2012 ; Allowe et al., 2008**).

#### III.3.5.1. Réaction d'hydrolyse

L'hydrolyse des triglycérides en glycérol et acides gras permet la conversion de ces derniers en alcool gras (**Jaeger et al., 1999**). Par exemple la lipase de *Penicillium requeforti* est spécifique des acides gras à courte chaîne (**Rihani, 2012**).



#### III.3.5.2. Réaction de synthèse

Les lipases possèdent également la capacité de synthétiser des esters dont la quantité d'eau du milieu détermine le type de la réaction favorisée, par exemple la lipase de *Geotrichum candidum* est spécifique des acides cis-9 insaturés et ceci quel que soit leur position (**Rihani, 2012**).

##### III.3.5.2.1. La transestérification

Elle implique la réaction d'un groupe acyle avec un alcool (alcoolyse) ou avec le glycérol (glycérolyse) ; ou par l'interestérification (**Reis, 2008 ; Allowe et al., 2008a**).

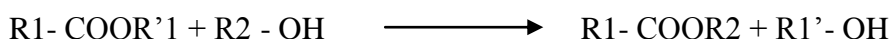
##### III.3.5.2.2 Interstérification :

Lors de la réaction, un groupe acyle est transféré à un acide gras ou à un ester d'acide gras (Jaeger et al., 1999). Comme le cas de la lipase de *Rhizomucormiehei* .



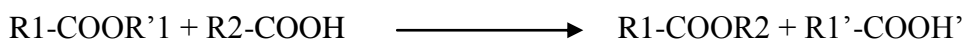
### III.3.5.2.3. Alcoolyse

C'est une réaction d'un ester avec un alcool monovalent (l'éthanol et butanol) ou un alcool polyvalent (la glycérine) pour produire un ester avec des différents groupes d'alkyl Alloue, 2008 . L'action de la lipase de *Rhizopusarrhizus* vis-à-vis des esters d'alcools primaires en position sn1 et sn3 des triglycérides (Rihani, 2012).



### III.3.5.2.4. Acidolyse

C'est une réaction d'un ester avec un acide qui mène un changement de groupe acyle transféré à un acide gras ; par exemple la lipase de *Candida antarctica* agit sur le groupement acyle (Gunstone, 1999).



## III.3.6. Sélectivité des lipases

Les lipases sont des catalyseurs très largement utilisés en synthèse organique principalement en raison de leur stabilité et leur activité en milieu organique .De plus elles présentent une grande chimiosélectivité, régiosélectivité, et stérioréselectivité.

### III.3.6.1. Régi sélectivité

La régi sélectivité qualifie la préférence d'une enzyme à interagir avec l'un des groupes fonctionnels identiques d'une molécule substrat. Les molécules de type peptide constituent souvent une problématique de régi sélectivité enzymatique lors de leur acylation.

Une étude consacrée à l'acylation du peptide modifié L-Phe-L-Lys-t-Bu a mis en évidence que plusieurs lipases présentaient une régi sélectivité marquée en faveur de la fonction amine en position de la lysine plutôt que la fonction amine en position du phényle alanine<sup>17</sup>. Des observations similaires ont été faites concernant l'acylation de la lysine biocatalysée par la lipase de *Rhizomucormiehei* (RML) en solvant organique<sup>18</sup>.

---

### III.3.6.2. Chimio-sélectivité

La chimio-sélectivité est la capacité d'une enzyme à interagir préférentiellement avec un groupe fonctionnel donné parmi des groupes fonctionnels distincts. Une étude consacrée à l'acylation enzymatique de la sérinamide, présentant une fonction amine primaire en

position et une fonction hydroxyle sur la chaîne latérale, a montré la propriété de chimio-sélectivité de la lipase de *Candida antarctica* immobilisée (Chirazyme) à catalyser essentiellement l'O-acylation en solvant organique<sup>19</sup>.

### III.3.6.3. Enantio sélectivité

L'énantiosélectivité se définit comme la spécificité d'une enzyme pour un substrat en fonction de sa stéréochimie. Des études récentes illustrent parfaitement la capacité des lipases à catalyser la N-acylation énantio sélective de molécules aminées à centre chiraux<sup>20, 21</sup>. Ces propriétés d'énantioselectivité seraient dues à une conformation tridimensionnelle particulière des résidus aminés catalytiques de leur site actif.

### III.3.7. Origine des lipases

Les lipases sont largement répandues dans la nature où elles jouent un rôle physiologique important dans le métabolisme des graisses ; on les retrouve chez de nombreux organismes vivants (Gilhan et Lehner, 2005).

#### III.3.7.1 Origine Animale

Les lipases animales représentent une source énergétique essentielle et avantageuse qui intervient dans le contrôle, de la digestion, de l'absorption et de la reconstitution des graisses ; elles se divisent en trois grands groupes.

##### III.3.7.1.1. Les lipases gastriques

Secrétées par la muqueuse gastrique et hydrolysent les lipides alimentaires dans l'estomac (Chahinian and sarda, 2009 ; Fickers et al., 2008).

##### III.3.7.1.2. Les lipases pancréatiques

---

Secrétées dans le duodénum ; responsable de la digestion des lipides alimentaires (**Gargouri et al., 1984**).

#### **III.3.7.1.3. Les lipases hépatiques**

Jouent un rôle dans le métabolisme des lipoprotéines où elles sont capable d'hydrolyser les glycérides ; les phospholipides et les esters de cholestérol (**Fickers et al ; 2008**).

#### **III.3.7.2. Origine Végétale**

Les lipases se trouvent au sein de la plante, principalement dans les graines où les trilcérides sont stockés dans des structures intracellulaires appelées oléosomes . Ces derniers contiennent des lipases capables d'être utilisées dans la biotransformation des lipides dans les domaines suivants la papeteries, l'oléochimie, la farine de blé et les huiles essentielle (**Wilfried et al., 2011**).

#### **III.3.7.3. Origine Microbienne**

Les lipases sont largement répondues chez les bactéries, les levures et les champignons filamenteux ; L'intérêt des lipases microbiennes n'a cessé de s'accroître au cours de ces dernières années principalement en raison du grand nombre d'application qu'elles offrent dans les domaines très variée (**Rihani, 2012**). Ces lipases possèdent des procédés de fabrication simples avec une grande stabilité vis-à-vis la température, les détergents et les enzymes protéolytiques (**Jaeger et al., 1994**).

##### **III.3.7.3.1. Origine bactérienne**

Les bactéries répondues dans la production de lipases sont plusieurs, et vu que la classification des microorganismes peut changer à l'issue de nouvelles découvertes taxonomique ; le nom des lipases microbiennes souvent été modifié à titre d'exemple la lipase de *Pseudomonas fluorescens* est devenue lipase de *Pseudomonas cepaci* ; la lipase de *Candida cylindracea* est devenue lipase de *Candida rugosa* . La lipase de *Serratiamarcescens* est utilisée pour la production de Méthyl-glycidate, employée dans la synthèse d'un antagoniste du calcium .

Dans le domaine laitier, on utilise *Pseudomonas fluorescens* pour la variation du gouts et de l'odeurs qu'elle donne au lait (**Alifax, 1972**).

---

**III.3.7.3.2. Origine fongique**

Le corps gras ; s'ils se trouvent en contact avec des moisissures, quand il s'agit d'espèces lipolytiques peuvent être l'objet d'altération de diverses natures ; ces moisissures possèdent dans leur équipement enzymatique une lipoxygénase des liaisons éthyléniques des acides gras insaturée. **(Alifaxe, 1975).**

Les cutinases sont des enzymes qui peuvent être apparentées aux lipases et estérases produit par *Fusarium solani* qui responsable de la formation de Mycétome chez l'homme **(Hasen et al., 2006; Fickers et al., 2008).**

La lipase de *Yarrowialipolytica* est en cours de développement au centre wallon de biologie industrielle et son application qui intéresse le secteur clinique **(Alloue et al., 2008).**

La lipase de *Mucor javanicus*, utilisée dans l'extraction et le fractionnement des huiles marines extraites à partir des poissons et des algues, conduit à une diversité de molécule d'acylglycéroles et trouvent de nombreuses applications dans le domaine agroalimentaire et de la santé **(Linder et al., 2004).**

# **Partie II : Pratique**

## **Chapitre I : Matériels et méthodes**



# CHAPITRE I Matériels et méthodes

---

## I. Matériel

### I.1. Matériel végétal

Les trois espèces végétales utilisés dans cette pratique appartenant à la famille des lamiacées sont *Origanum majorana* , *Origanum vulgare* et *Origanum floribundum* .

Les parties aériennes ont été récoltées au mois de juillet 2017 à région guemar wilaya d' el-oued ,la wilaya TIZI-OUZOU respectivement ; mais *l'Origanum floribundum* , les trois organes (tige , feuille et fleur ) au mois de juillet 2018 d' wilaya de SOUK AHRASS( région welede moumen ) .

Les plantes ont été collectées et séchées à température ambiante pour les trois plants étudiés .



**Figure 12 :** Présentation d'*Origanum vulgare* (A) , d'*Origanum majorana* (B) et d'*Origanum floribundum* (C) ( photo original , 2019 ) .

# CHAPITRE I Matériels et méthodes

## I.1.1. Situation géographique

Notre zone d'étude se constitue englobant trois wilayas ; la wilaya d'el oued est située au sud – est Algérien du grand erg oriental (figure,13) et une superficie de 35706 Km<sup>2</sup> avec une altitude moyenne de 60 m(DOYEM.S, 2015) la ville de TIZI-OUZOU occupe une surface de 102.36 Km<sup>2</sup> , est situé a environ de 100 Km d' ALGER (SBARGOUD, 2009) et La wilaya de SOUK AHRAS se situe à l'extrême Est du pays, près de la frontière tunisienne à 640 Kilomètres d'Alger. La wilaya occupe une superficie de 4 360 Km<sup>2</sup> .

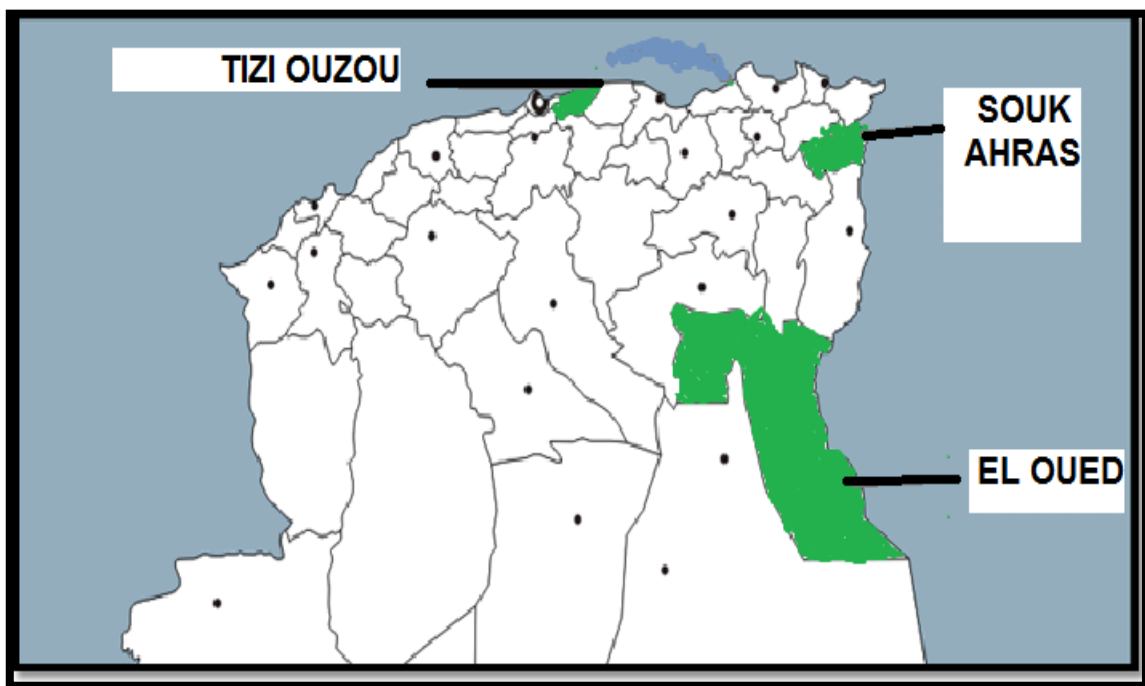


Figure 13 : Localisation des régions des études (RHD-NJM)

## I.1.2. Climat des zones d'étude

Le climat d'El-OUED est caractérisé par une aridité extrême (climat hyperaride). L'hyper aridité et la chaleur sont ses caractères essentiels (BOULIFA, 2012) ; la température de TIZI-OUZOU augmente d'une façon significative au mois de Janvier au mois d'Aout, par la suite il y a diminution jusqu'au mois de janvier .La région de TIZIOUZOU présente un régime pluvial des types de saisons (Hiver, Printemps, Automne et Eté), la saison la plus humide est l'Hiver avec 42,81% des précipitations moyennes annuelles soit 321,88 mm, la quantité de pluie reçue en Automne et au printemps(SBARGOUD, 2009) .et la wilaya de SOUK AHRAS est caractérisée a un climat froid et humide en hiver et sa température varie de 1 à 15 degrés; Celsius en janvier ; il

## CHAPITRE I Matériels et méthodes

fait chaud et sec en été avec des températures comprises entre 25 et 32 degrés en juillet et août .avec des précipitations moyennes comprises entre 650 ml /an au nord et 350 ml /an au sud .

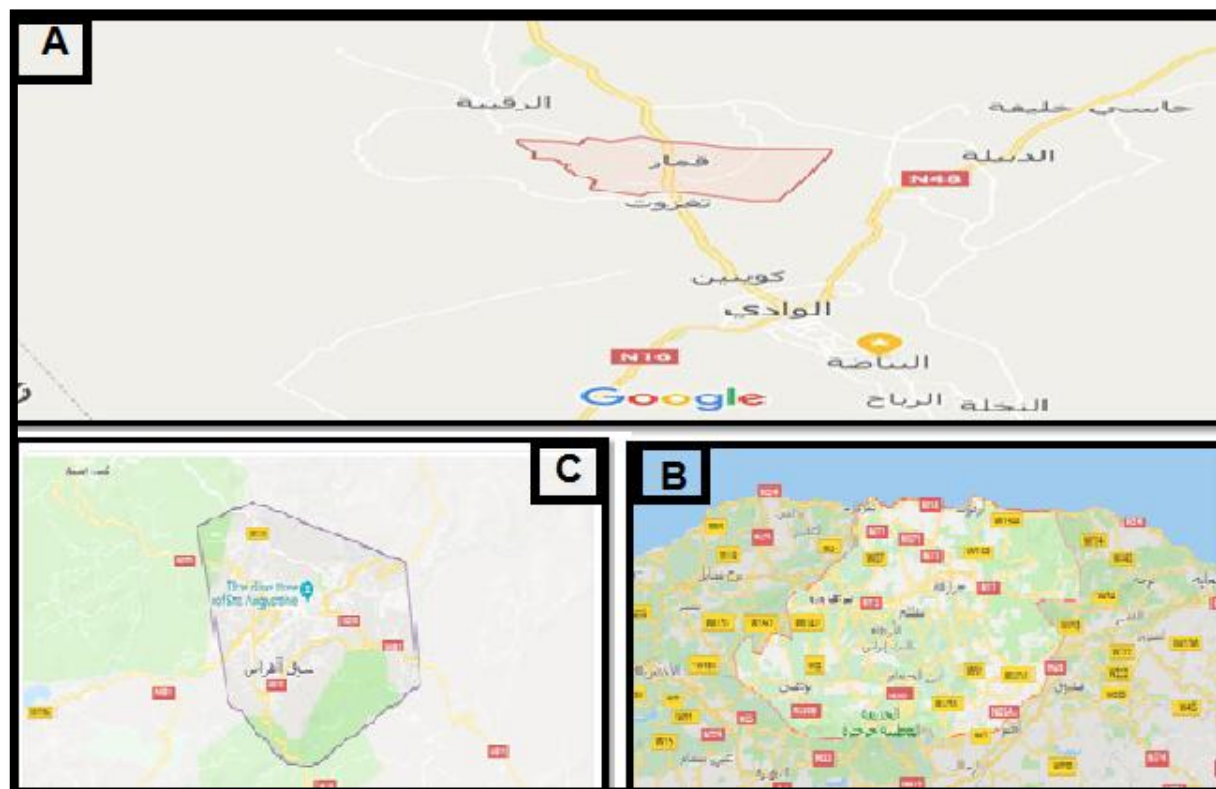


Figure 14: Situation géographique des zones d'étude " Guemar ELOUED " (A) ; "TIZI-OUZOU " (B) et "weled moumain SOUK AHRAS " GoogleMaps

### I. 2. Analyses phytochimiques

#### I.2.1. Méthode de préparation d' extrait aqueux

On met dans un bécher , 30g de matériel végétal en contact avec 180 ml d' eau distillée . l' ensemble est porté à ébullition pendant 30 min. Ensuite, le mélange est filtré pour les analyses de quelques tests phyto- chimiques. (MAMYRBEKOVA-BEKRO.J, 2013).

#### I.2.2. Screening phytochimiques

##### ✚ Flavonoïdes

Pour chaque 5 ml d'extrait, on ajoute quelques gouttes d' HCl concentré et quelques milli grammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l' apparition d' une couleur rouge ou orange ( HADJ MOUSSA ,A, 2012)

##### ✚ Tanins

Un volume de 2 ml de chacun des deux extraits , est additionné à 2 à 3 gouttes de la solution de  $FeCl_3$  à 1%. Après quelques minutes d' incubation , le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre qui indique la présence des tanins (BOUKEZATA.A, 2014)

## CHAPITRE I Matériels et méthodes

---

### + Alcaloïdes

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante : on additionne 5 ml d'HCL 1% à 1ml de chaque extrait , le tout est chauffé au bain marie , puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer , l'autre par le réactif de Wagner . La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (TAHRAOUI.F, 2014).

### + Saponosides

Dans un tube à essai, nous avons introduit 10 ml de l'extrait aqueux .Le tube est agité pendant 15secondes , puis laissé au repos pendant 15 min . Une hauteur de mousse persistante , supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (GHARBI ., ZEGHIB ., 2016 ) .

### + Quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées . L'apparition d'une couleur qui vire au jaune , rouge ou violet indique la présence des quinones libres (TAHRAOUI.F, 2014).

### + Terpénoïdes

A 5 ml de chaque extrait , on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml de H2SO4concentrée . la présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase (BOUKEZATA;2014 ) .

### + Anthraquinones

A 10 ml de chacun de nos extraits , on ajoute 5 ml de NHOH à 10% et on agite . L'apparition de couleur violette indique un test positif ( **BOUKEZATA; 2014** ) .

### + Sucres réducteurs.

On ajoute 1 ml de liqueur de Fehling à 5 ml de chaque extrait . Un test positif est Indiqué par l'apparition d'un précipité rouge brique (GHARBI ., ZEGHIB ., 2016 )

## II.3. Préparation des extraits

Dans un bécher , 30g de poudre fine de chaque plante sont mis en contact avec 300ml d' eau distillé . l'ensemble est porté a ébullition pendant 30 min sur un bain de sable . après la filtration de les décoctés sont séchés à l' étuve à 55°C . pendant 2 jours ; les extraits obtenus sont échantillonnés pour les analyses phyto-chimiques . (MAMYRBEKOVA-BEKRO.J, 2013) .

### Détermination le rendement d' extrait

Le rendement extrait (R) est le rapport entre la masse de l'extrait sec résultant (M) et la masse du matériel végétal à traiter (M') ; Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante:

$$R\% = (M/M') \times 100$$



# CHAPITRE I Matériels et méthodes

---

Rendement exprimé en %.

**M:** Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

**M'** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter. (HADJMOUSSA., 2012 ).

## I.4. Analyse qualitatif par CCM

### I.4.1. Préparation des extrais pour les caractérisations phyto-chimiques par CCM

On ajoute 15g de décocté de chaque plante sont dissous dans 200 ml d'eau distillée . les solutions sont successivement épuisées par 66ml d' hexane , de chloroforme , d'acétate d'éthyle et de n-butanol . (MAMYRBEKOVA ,B *et al* ; 2013)

### I.4.2 . Séparation par chromatographie sur couches minces (CCM)

#### ✚ Principe

La CCM est une technique physique de séparation des constituants d'un mélange complexe par entraînement a l'aide d'une phase mobile (solvant) le long d'une phase stationnaire (gel de polyamide, gel de silice, alumine) maintenue sur une plaque en verre ou en plastique rigide ,en se basant sur les phénomènes d'adsorption et de partage. La révélation se fait sous contrôle UV ou à la suite de pulvérisation de réactifs spécifiques pour les composés recherchés. (KHELFALLAH.A ; 2013)

#### ✚ Mode opératoire

Les essais de CCM sont réalisés sur nos extraits organiques : hexane , chloroforme , acétate d'éthyle et n-butanol .

15g de décocté de chaque plante sont dissous dans 200 ml d'eau distillée . les solutions sont successivement épuisées par 66ml d' hexane , de chloroforme , d' acétate d'éthyle et de n-butanol .

On met 2 µl de chaque extrait organique sont analysés sur chromatoplaque préparé de verre fluorescente recouverte d'une face de gèle de silice 64G (Fluka) par différents gradients de solvants de migration en successivement :

- CCM des extraits hexaniques : n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> / AcOEt , (8:1.9)
- CCM des extraits chloroformiques : cyclohexane / AcOEt , (10 : 8)
- CCM des extraits acétate éthyliques : AcOEt / CHCL<sub>3</sub> / AcOH , (8: 7 : 0.5 )
- CCM des extraits n-butanoliques : Toluène / Acétone / Acide formique , (3 : 5 )

Après séchage , les chromatogrammes sont révélés soit dans le visible soit sous UV : 366 nm avec ou sans révélateurs appropriés . (MAMYRBEKOVA-BEKRO.J, 2013)

L'interprétation qualitative des chromatogrammes s'effectue par la détermination des facteurs de rétention Rf. La position finale da la tache (ou spot) est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur, Elle dépend de la composition de l'éluant utilisé. Ce Rf est le rapport de la

## CHAPITRE I Matériels et méthodes

distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant. (HADJMOUSSA . A; 2012)

$$R_f = \frac{x}{y} = \frac{\text{hauteur de la tache}}{\text{hauteur du front du solvant}}$$

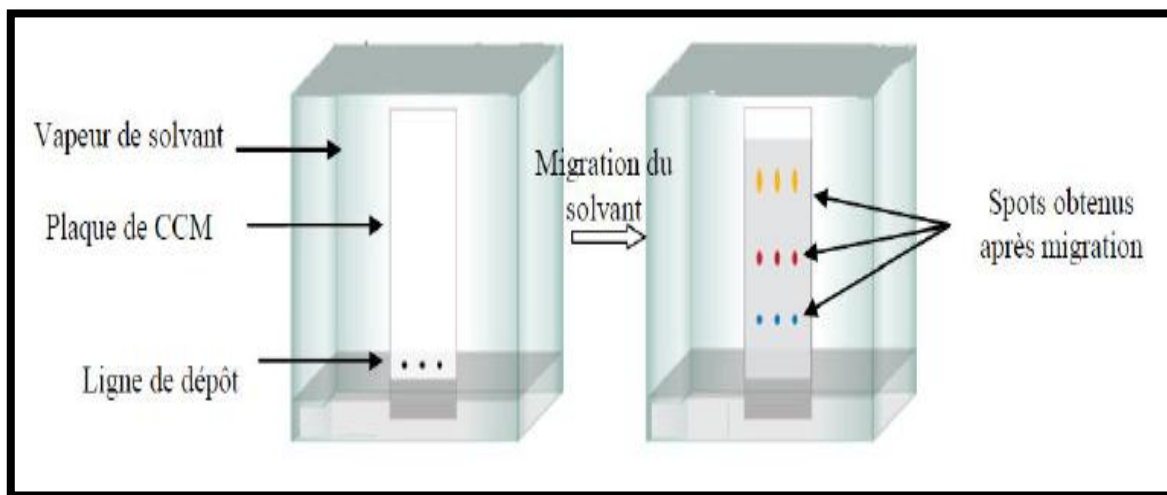


Figure 15 : Migration des constituants de l'extrait lors d'une CCM analytique (KALFALLAH .A )

### I.5. Activité anti oxydante

#### Principe :

Le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense (KESSOUM .S) . le couleur violette se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune (Figure 16 )(LANSEUR . R), par un agent anti oxydante entraîne une décoloration de la solution ( LARABA et al ., 2016) . il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (BOUDJOUREF. M ; 2011)

## CHAPITRE I Matériels et méthodes

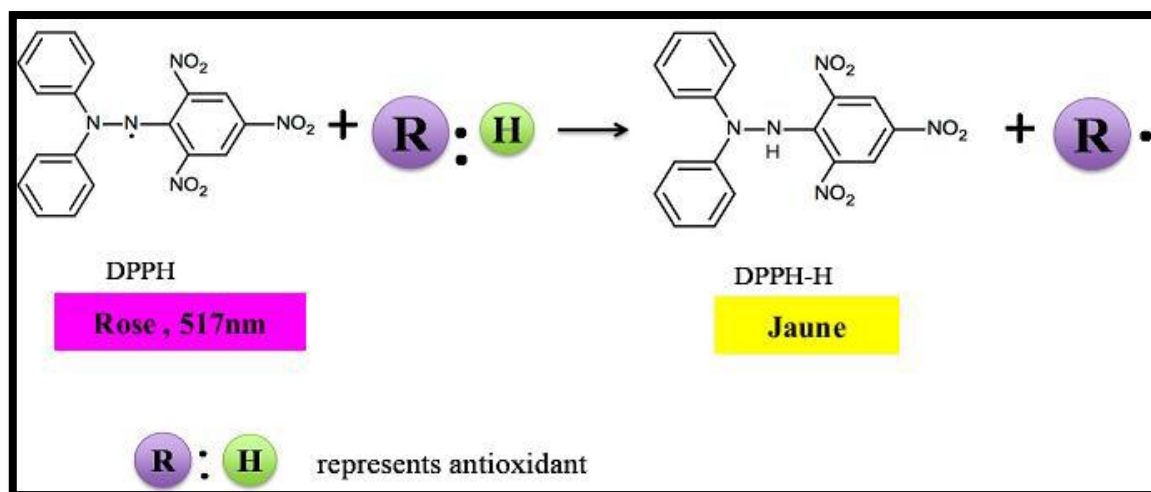


Figure 16: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (RH) (GOUDJIL., 2016) .

### Mode Opérateur

La capacité de l'extrait de plante à piéger les radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) a été évaluée en utilisant la méthode décrite par (BOUHADDOUDA Nabila, 2016) , suivi du calcul de l'IC<sub>50</sub> . La solution mère de l'extrait de plante a été préparée dans du méthanol pour atteindre la concentration de 2000 ug / ml. De plus, des dilutions au double ont été effectuées pour obtenir des concentrations différents de 1000 ug / ml à 7,81 ug / ml. Des solutions diluées d'extrait (500ul chacune) ont été mélangées avec 500 ul de solution méthanoïque de DPPH (80 ug/ml) .

Après 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance a été lue dans un spectrophotomètre à 517 nm. Les échantillons témoins consistaient en 500ul de méthanol ajoutés à 500ul de solution de DPPH. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. L'expérience a été réalisée en trois fois.

L'activité antioxydante est exprimée comme le pourcentage d'inhibition calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Activité Antioxydant (\%)} = 100 \times [(A \text{ contrôle} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}]$$

; Où :

**A contrôle** : représente l'absorbance de l'échantillon contrôle .

**A échantillon** : représente l'absorbance de l'huile essentielle .

La concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH . Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydant (en %)

## CHAPITRE I Matériels et méthodes

---

en fonction de différentes concentrations de l'extrait testée . Une faible valeur d'IC<sub>50</sub> indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH .

**Indice de l'activité antioxydant (AAI)** est calculé selon l'équation suivante (BOUHADDOUDA Nabila, 2016) :

$$\text{AAI} = \text{concentration finale de DPPH } (\mu\text{g/ml}) / \text{IC}_{50} (\mu\text{g/ml}) .$$

Les résultats d'AAI sont exprimés comme suit :

**AAI < 0.5** → faible activité anti-oxydante , **AAI > 1** → forte activité anti-oxydante .

**AAI > 0.5** → activité anti-oxydante modérée , **AAI > 2** → très forte activité anti-oxydante .

### I.6. Activite anti-enzymatique

#### I.6.1. Evaluation de l' activité enzymatique in vitro ( l' $\alpha$ -amylase )

##### I. 6.1.1. Préparation des solutions et des réactives

###### ✚ Préparation de l' $\alpha$ -amylase

La préparation de l' $\alpha$ -amylase a été réalisée selon la méthode de ( **BECHROUNE .K et LARAB.A ; 2018**), ( **RAMSHA .S ; 2015**° et ( **ALI ,A et al ; 2006**) ( **RHUSCORIARIA ,L; 2006** ), on utilise le médicament "mégamylase , est un médicament anti inflammatoire qui contient 3000 unités d' $\alpha$ -amylase par comprimé .avant écraser le deux comprimés avec 10 ml d' eaux distillé , enlever l'enrobage en frottant le deux comprimés sous l'eau du robinet . le mélange a été ensuite filtré sur papier wattman .

le filtrat obtenu a été ensuite additionné de 1 ml de chlorure de calcium 0.1 % pour améliorer la solubilité de l' enzyme puis centrifuger à 4000 r pm pendant 10 min. le surnageant récupéré est rapidement homogénéisé et aliquote par fractions de 1 ml conservées à 4°C pour utilisation immédiate ou bien conservées au congélateur à -20°C pour utilisations ultérieures .

###### ✚ Préparation de solution d'amidon

On chauffe dans un erlen-meyer de 500 ml , 150 ml d'eau distillée (éviter l'ébullition ) , pese 4 g d' amidon soluble , délaie dans 10 ml d'eau distillée froide , verser cette suspension en 4 ou 5 fois dans l'eau distillée presque bouillante ( à chaque fois , agiter jusqu'à obtention d' une solution limpide ) . on porte à ébullition 3 ou 4 minutes ; refroidir sous l' eau du robinet puis transvaser dans une fiole jaugée de 200 ml et compléter avec de l' eau distillée .



## CHAPITRE I Matériels et méthodes

### ✚ Préparation de lugol

La solution iodo-iodurée est la solution contient par litre , 1.27g d'iode et 2.5 g d' iodure de potassium .

#### II.6.1.2. Protocole expérimental

- Dans un tube verser 10 ml d'empois d'amidon et 2 ml de solution d' amylase , agite le mélange et la mise en évidence d'amidon par l' eau iodée .
- on prélève immédiatement quelques gouttes pour faire le temps 0 .
- on incube au bain-marie à 37 °C .
- on prélève quelques gouttes toutes les 20 secondes pour faire le test .
- La révélation de Réactivité de produits de dégradation de dégradation de l' amidon au lugolest amidon : bleu (noir ), amyloextrines : (violacé) , erythroextrines : (rouge ), achroodextrines :(jaune orangé ).

#### II.6.2. Influence du temps sur le déroulement de l' activite de l'enzyme (l' amylase )

-on prépare 8 tubes à essais selon le tableau suivant :

**Tableau 06 :** influence du temps sur le déroulement de l' activité de l'enzyme (l'alpha amylase ).

Tube n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Temps(s)	0	20	40	60	80	100	120	140
Empois d'amidon (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2 ml eau distillée
Tampon pH 5.2(ml)	2	2	2	2	2	2	2	2
<b>Placer les tubes au bain – marie à 30°C pendant 3 minutes puis y pipeter</b>								
Amylase (ml)	1	1	1	1	1	1 ml sol amylase diluée 3 fois	1 ml sol amylase bouillie	1

- on agite les tubes ; les remplacer au bain-marie à 30°C .

- toutes les 3 minutes , on prélève en duplicata dans l' un des tubes 1 à 5 1 ml du milieu réactionnel.

- on dépose le prélèvement dans un tube à essais contenant 0.1 ml de lugol.

## CHAPITRE I Matériels et méthodes

---

- on agite et définit la coloration du tube .
- en déduire l'état d' avancement de la réaction .
- après 15 minutes , on prélève en duplicata 1 ml du milieu réactionnel des tubes 6 à 8 .
- on dépose le prélèvement dans un tube à essais contenant 0.1 ml de lugol .
- on agite et définit la coloration du tube .
- on conclut

### Remarque :

Au bout d' une minute tout l' amidon est hydrolysé , on a le temps de faire ensuite le test de Fehling pour les sucres réducteurs , en utilisant le bain-marie à 100°C ( ou à 80°C ça marche aussi )

### I.6.3. Détermination des activités inhibitrices de l' alpha-amylase avec spectrophotomètre

Les activités inhibitrices d'alpha-amylase de différents extraits de plante fractions dans différents solvants ont été déterminées selon un essai présenté et décrite par (RAMSHA,S et DILDAR , A ; 2015) .), et (ALI ,A et al ; 2006) (RHUSCORIARIA ,L; 2006) modifier

#### I.6.3.1. Préparation des solutions et des réactives

##### I.6.3.1.1. Préparation de solution mère de l'échantillon de plante étudié

La solution mère (15 ml ) de l'échantillon des plantes ont été préparées en dissolvant 0.6 g de les différents d'extrait dans du DMSO ; On dilue de cette solution (1,2,3,.....,12 mg/ml) ont été préparée en ajoutant un volume approprié de DMSO .

##### I.6.3.1.2. Préparation la mélange de solution DNS et tartrate de sodium et de potassium

La solution de réactif de coloration DNS( 96 mM d'acide 3.5-dinitro salicylique ) a été préparée en dissolvant 0.438g d'acide 3.5-dinitro salicylique dans 20 ml d'eau distillée . il a été chauffé et agité jusqu'à dissolution complète . et pour préparer la solution de tartrate de sodium et de potassium .

On met 12 g de tartrate de sodium et de potassium tétra hydrate; ont été dissous dans 8 ml de solution de NaOH (2M) . il a été chauffé et agité jusqu'à obtention d'une solution limpide .

Les solutions d' acide tri-dinitro-salicylique à 96 mM et tartrate de sodium et de potassium ont été mélangées et diluées avec 12 ml d'eau distillée ; la solution a été maintenue dans l' obscurité jusqu' à son utilisation .

## CHAPITRE I Matériels et méthodes

---

### I.6.3.1.3. Préparation de solution d'amidon 0.5%

Pour préparer une solution d' amidon à 0.5% ;0.5g d' amidon a été mis en suspension dans 100 ml de solution tampon et porté à ébullition pendant 15 min . la solution a été refroidie à la température ambiante et le volume a été maintenu en ajoutant de l'eau distillée .

### I.6.3.2. Protocole expérimental des activités inhibitrices de l' alpha-amylase par spectrophotomètre

Dans un tube à essai, 0.5 ml de solution d'échantillon a été mélangé à 0.5 ml de solution d'enzyme. Le mélange à tester a été incubé pendant 30 min à 25°C. Après pré-incubation, 1ml d'une solution d'amidon à 0.5% a été ajouté. Le mélange a de nouveau été incubé pendant 3 min et 1 ml de réactif DNS y a été ajouté. Ce mélange d'essai a ensuite été chauffé pendant 15 minutes à 85° C. Il a été refroidi à la température ambiante et 9 ml d'eau froide ont été ajoutés. L'absorbance était mesurée à 540 nm contre un blanc.

Pour le blanc, 1 ml de réactif DNS a été ajouté avant 3min d'incubation , puis 1 ml de solution d'amidon . La procédure restante était la même que pour l'échantillon .

Pour la préparation témoin , la solution enzymatique a été incubée avec du DMSO au lieu de la solution échantillon. La procédure restante était la même que celle utilisée pour préparer l'échantillon. Le pourcentage d'activité inhibitrice a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ D'activité inhibitrice} = 100 (A_c - A_s / A_c)$$

Ou:

**A<sub>c</sub>** : sont les absorbances du contrôle .

**A<sub>s</sub>**: sont les absorbances du l'échantillon.

- respectivement. Les valeurs de CI<sub>50</sub> ont été calculées à partir de l'équation en ligne droite obtenue en traçant la concentration en fonction de l'absorbance .

# **Chapitre II :**

## **Résultats et discussion**

## I. Résultats

### I.1. Analyse phyto-chimique

Les tests phyto-chimiques est une analyse qualitative qui nous permet à mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires que contiennent les extraits préparés à partir de la partie aérienne d'*Origanum majorana* , *Origanum vulgare* et les différents organes de *origanum floribandom*. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais des réactions de précipitation et de turbidité , un changement de couleur spécifique . Les résultats sont récapitulés dans le tableau (07) par de mettre la présence de certains groupes et l'absence d'autres de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes .

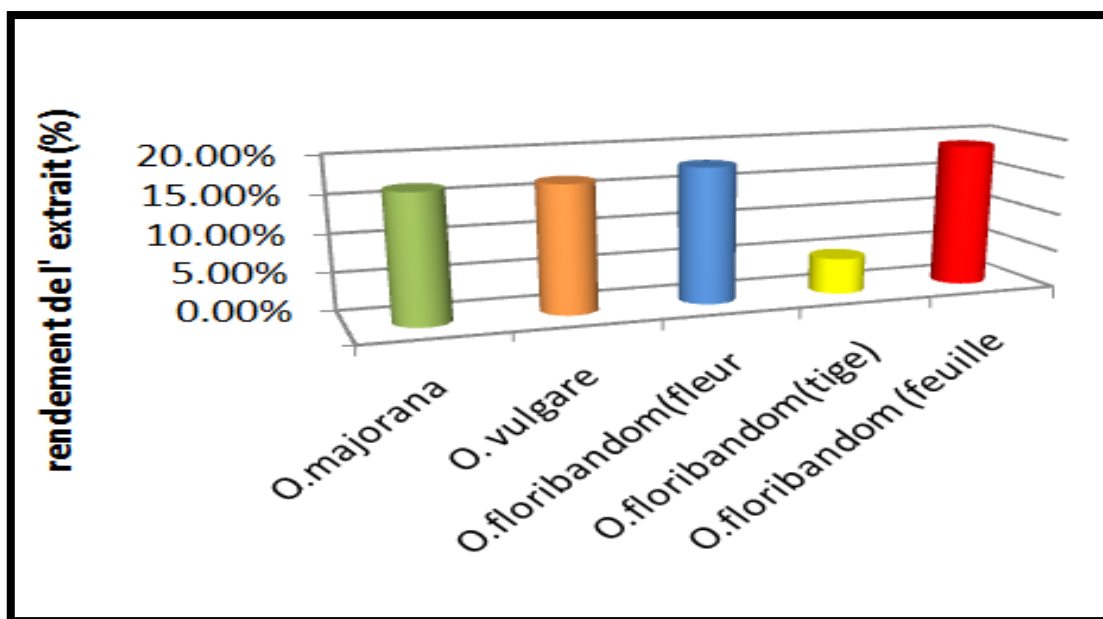
**Tableau 07:** Résultats des tests phyto-chimiques réalisés sur les extraits de notre plantes étudiée :

Groupes chimiques		<i>O.majorana</i>	<i>O.vulgare</i>	<i>O. floribandom</i>		
				<i>Fleure</i>	<i>tige</i>	<i>Feuille</i>
<b>Flavonoïde</b>		+	+	+	+	+
<b>Tanin</b>		+	+	+	+	+
<b>Saponosides</b>		+	+	+	+	+
<b>Quinone libre</b>		-	-	-	-	-
<b>Anthraquinone</b>		-	-	-	-	-
<b>Terpénoides</b>		+	+	+	+	+
<b>Alcaloïde</b>	wagner	-	-	-	-	-
	mayer	-	-	-	-	-
<b>Sucre réducteur</b>		+	+	+	+	+

Selon les résultats du tableau (07) ; les composants chimique suivantes : flavonoïde ,tanin , saponosides, terpénoides et sucre réducteur sont présentes dans les trois plantes étudiés. mais ; les alcaloïde, quinone libre et anthraquinone sont absentes .

## I.2.Préparation des extraits

### I.2.1.Rendement des extraits :



**Figure17:** histogramme du rendement des extraits d'*O.majorana*, *O.vulgare* et les différents organes d'*O.floribandom*.

D'après les résultats obtenus (figure 17) les rendements des extraits sont variables ou les deux extraits (feuille et fleur) d'*O.floribandom*, les rendements les plus élevés de 18.86%, 17.83% respectivement, par rapport à l'extrait d'*O.vulgare* et *O. majorana*, qui donnent même rendement 16.66%. Alors que l'extrait de tige d'*O.floribandom* présente un faible rendement 4.71%.

## I.3. Analyse qualitative par CCM

Dans notre étude, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince pour un essai d'analyse qualitative du contenu phénolique de nos différents extraits organiques : hexane, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol pour les trois plantes étudiées par différents gradients de solvants de migration. Suivant la révélation des plaques CCM; les spots ont été visualisés soit dans le visible soit sous UV : 366 nm avec ou sans révélateurs appropriés. figure (Annexe 3).

Tableau 08:Rf de CCM et composés identifiés dans l' extrait hexanique de tous les organes de trois espèces étudiées par CCM .

Développant : n-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> / AcOEt , 8:1.9 (v/v)

Extrait	Sans révélateur			Avec révélateur		Phytocomposés possibles	
	Rf	Visible	UV 366nm	Liebermann-burchard			
				visible	UV 366nm		
<i>Origanum floribundum</i>	T1	0.075 0.16 00.24 0.67	- - - -	- - - -	- - - -	- - Jaune -	Coumarine Triterpènelupane Stérol A Téropène Triterpèneolèanane et ursane
	T2	0.045	-	-	-	-	Coumarine Triterpènelupane Téropène Stérol A Triterpèneolèanane et ursane
	T3	0.055 0.4 0.5	- - -	- - -	- - -	- - Jaune	Coumarine Triterpènelupane stérol A Téropène Triterpèneolèanane et ursane

<i>Origanum vulgare</i>	T4	0.075	-	-	-	-	Coumarine
		0.18	-	-	-	-	Triterpène lupane
		0.2	-	-	-	Jaune	Stérol A
		0.4	-	-	-	-	Terpène Triterpène oléane et ursane
<i>Origanum majorana</i>	T5	0.04	-	-	-	-	Coumarine
		0.2	-	-	-	Orange	Triterpène lupane Stérol A Terpène Triterpène oléane et ursane

**Tableau 09:** Rf de CCM et composés identifiés dans les extraits chloroformiques de tous les organes de trois espèces étudiées par CCM .

Développant : cyclohexane / AcOEt , 10 :8 (v/v)

Extrait	Sans révélateur			Avec révélateur			Phytocomposés possibles
	Rf	Visible	UV 366nm	Liebermann-burchard		FeCl3	
				visible	UV 366nm	visible	
<i>Origanum floribundum</i>	T1	0.055	-	-	-	-	Flavonoïde
		0.26	-	-	-	-	anthocyane
		0.53	-	-	-	-	Coumarine C de
		0.64	-	-	-	Jaune	type angélique
		0.8	-	-	-	-	Saponine
		0.86	-	-	-	-	stéroïdique
		0.97	-	-	-	-	Coumarine Tanin



								Terpène
	T2	0.035	-	-	-	-	-	Flavonoïde
		0.28	-	-	-	-	-	anthocyane
		0.29	-	-	-	-	-	Coumarine C de
								type angélicine
								Saponine
								stéroïdique
								Coumarine
								Tanin
								Terpène
	T3	0.13	-	-	-	-	-	Flavonoïde
		0.23	-	-	-	Jaune	-	anthocyane
		0.375	-	-	-	Jaune	-	Coumarine C de
		0.47	-	-	-	-	-	type angélicine
		0.63	-	-	-	-	-	Saponine
								stéroïdique
								Coumarine
								Tanin
								Terpène
<i>origanumvulgare</i>	T4	0.037	-	-	-	-	-	Flavonoïde
		0.14	-	-	-	-	-	anthocyane
		0.28	-	-	-	Orange	-	Coumarine C de
		0.6	-	-	-	-	-	type angélicine
		0.7	-	-	-	-	-	Saponine
		0.86	-	-	-	-	-	stéroïdique
								Coumarine
								Tanin
								Terpène

<i>Origanum majorana</i>	T5	0.055	-	-	-	-	-	Flavonoïde anthocyane Coumarine C de type angélicine Saponine stéroïdique Coumarine Tanin Terpène
		0.1	-	-	-	-	-	
		0.36	-	-	-	-	-	
		0.7	-	-	-	-	-	

**Tableau 10:**Rf de CCM et composés identifiés dans les extrais acétate éthyliques de tous les organes de trois espèces étudiées par CCM .

Développant : AcOEt / CHCL<sub>3</sub> /AcOH , 8:7:0.5 (v/v/v) .

Extrait	Sans révélateur			Avec révélateur			Phytocomposés possibles
	Rf	Visible	UV 366nm	Al c13		Fe c13	
				Visible	UV 366nm	Visible	
<i>Origanum floribundum</i>	T1	0.085	-	-	-	-	Coumarine (ombélliférone ) Hydroxyflavonol A ,B et C Flavonol ou aurone Flavonoïde (quercétine) Tanin E Flavoneméthylée Flavonoïde D Flavonoïdexanthonique
		0.31	-	jaune	-	-	
	T2	0.04	-	-	-	-	Coumarine (ombélliférone )
		0.10	-	-	-	-	

								HydroxyflavonolA ,B et C Flavonol ou aurone Flavonoide (quercétine) Tanin E Flavoneméthylée Flavonoide D Flavonoïdexanthonique
	T3	0.055 0.1	- -	- jaune	- -	- bleu	- -	Coumarine (ombélliférone ) HydroxyflavonolA ,B et C Flavonol ou aurone Flavonoide (quercétine) Tanin E Flavoneméthylée Flavonoide D Flavonoïdexanthonique
<i>origanumvulgare</i>	T4	0.11 0.355	- -	- -	- orange	Orange -	- -	Coumarine (ombélliférone ) HydroxyflavonolA ,B et C Flavonol ou aurone Flavonoide (quercétine) Tanin E Flavoneméthylée Flavonoide D Flavonoïdexanthonique

<i>Origanummajorana</i>	T5	0.06	-	-	-	-	-	Coumarine (ombélliférone ) HydroxyflavonolA ,B et C Flavonol ou aurone Flavonoïde (quercétine) Tanin E Flavoneméthylée Flavonoïde D Flavonoïdexanthonique
		0.11	-	-	-	-	-	

**Tableau 11:**Rf de CCM et composés identifiés dans les extraits n – butanolique de tous les organes de trois espèces étudiées par CCM .

Développant : toluène / acétone /acide formique , 3:5:1 (v/v/v) .

Extrait	Sans révélateur			Avec révélateur			Phytocomposés possibles
	Rf	Visible	UV 366nm	AlCl <sub>3</sub>		FeCl <sub>3</sub>	
				Visible	UV 366nm	Visible	
<i>Origanumfloribundum</i>	T1	0.17	-	-	-	-	Flavoneméthylée ,hydroxyflavonol Flavonoïde Saponine stéroïdique C Flavonoïde xantonique Saponine stéroïdique C
		0.28	-	-	-	-	
		0.31	-	-	-	-	
		0.39	-	-	-	-	
	T2	0.35	-	-	-	-	Flavoneméthylée ,hydroxyflavonol Flavonoïde Saponine stéroïdique C Flavonoïde xantonique
		0.5	-	-	-	Bleu	
		0.65	-	-	-	-	

								Saponine stéroïdique C
	T3	0.16	-	-	-	-	-	Flavoneméthylée
		0.22	-	-	-	-	-	,hydroxyflavonol
		0.49	-	-	-	-	-	Flavonoïde
								Saponine stéroïdique C
								Flavonoïde xantonique
								Saponine stéroïdique C
<i>origanumvulgare</i>	T4	0.1	-	-	-	-	-	Flavoneméthylée
		0.18	-	-	-	-	-	,hydroxyflavonol
		0.32	-	-	-	-	-	Flavonoïde
		0.32	-	-	-	-	-	Saponine stéroïdique C
		0.67	-	-	-	-	-	Flavonoïde xantonique
		0.68	-	-	-	-	-	Saponine stéroïdique C
<i>Origanummajorana</i>	T5	0.09	-	-	-	-	-	Flavoneméthylée
		0.14	-	-	-	Bleu	-	,hydroxyflavonol
		0.41	-	-	-	-	-	Flavonoïde
								Saponine stéroïdique C
								Flavonoïde xantonique
								Saponine stéroïdique C

#### I.4. Activité anti-oxydant

Les résultats de mesure des pourcentages d'inhibition ( $IC_{50}$ ) des extraits d'*Origanum majorana*, *Origanum vulgare*, *Origanum floribandum* et l'acide ascorbique sont illustrés dans le tableau(12).

**Tableau12** : activité antioxydant des extraits d'*O. majorana*, *O. vulgare* et *O. floribundum*

Les échantillons		IC <sub>50</sub> ug /ml	AAI
Acide ascorbique		31	<b>1.29</b>
Origanum majorana		45	<b>0.88</b>
Origanum vulgare		40	<b>1</b>
Origanum floribundum	Feuille	51	<b>0.78</b>
	Tige	2000	<b>0.02</b>
	fleur	4500	<b>0.008</b>

D'après les résultats obtenus au tableau (12) l'extrais de tige d'*Origanum floribandum* exercent une activité antioxydant faible avec  $IC_{50} = 2000 \text{ ug / ml}$  et un AAI de 0.02 et pour l'extrais de fleur d'*Origanum floribandum*  $IC_{50} = 4500 \text{ ug / ml}$  et un AAI de 0.008 mais ; l' extrais de feuille d'*Origanum floribandum* exercent une activité anti oxydante modérée avec  $IC_{50} = 51 \text{ ug / ml}$  et un AAI de 0.78 ; l' *Origanum vulgare* avec  $IC_{50} = 40 \text{ ug / ml}$  et AAI= 1. Cependant , la capacité antioxydant de l'huiles essentielles des deux plantes restent moindre par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, la vitamine C ( $IC_{50} = 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$  ).

#### I. 5. Activité anti- enzymatique

L'activité anti amylase *in vitro* de nos extraits a été évaluée par l'utilisation du test colorimétrique indirect du dosage du glucose, produit par hydrolyse enzymatique de l'amidon, et l'inhibition de l'activité enzymatique avec spectrophotomètre ; en utilisant une amylase constituant actif d'un médicament « le Mégamylase »

Dans notre étude, l'activité enzymatique de l'  $\alpha$ - amylase à été mesurée à l'aide du substrat l'amidon. Nous avons néanmoins choisi l'amidon comme substrat essentiellement

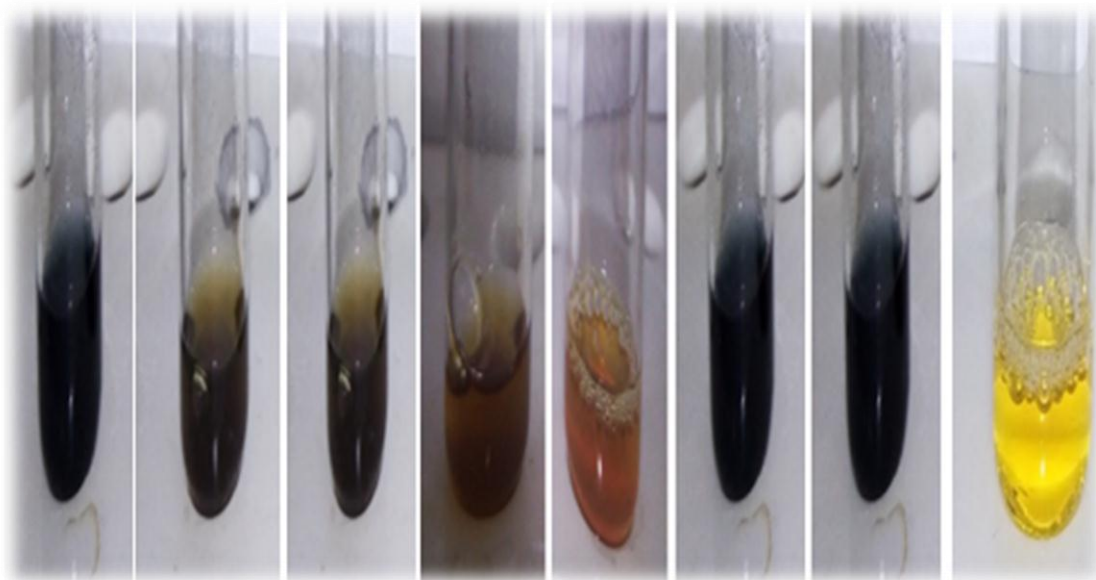
I.5.1. Influence du temps sur le déroulement de l' activité de l'enzyme (l' amylase )

L'influence du temps d'incubation sur l'inhibition de l'activité enzymatique par l'extrait à été examinée jusqu'à 30 min.

**Tableau 13 :** le résultat de influence du temps sur le déroulement de l' activité de l'enzyme (l' amylase ) :

tube l'extrait examinée	01	02	03	04	05	06	07	08
Coloration après le traitement de lugole	Bleu noir	Bleu Violet	Bleu Violet	Marronvert	Marron	Noire	noire	Jaune
Coloration après le traitement deFehling	Bleu	Rouge	Rouge	Rouge brique	Rouge brique	Bleu	Bleu	Bleu

D'après les résultats de l'influence du temps d' incubation sur l' inhibition de l' activité enzymatique; la changement de coloration d'extrait de chaque tube de (1 à 8) par la dégradation de l' amidon avec l'enzyme alpha amylase ; résume a la figure ( 18)



**Figure 18:**la dégradation de l'amidon avec l'enzyme alpha amylase par l'influence du temps .

### I.5.2. Détermination des activités inhibitrices de l' alpha-amylase

Les résultats des tests d'inhibition en tableau (14), n'ont montré aucun effet inhibiteur quel que soit l'extrait de plantes utilisé aussi bien pour l'amylase de l'orge ou pour l'amylase du médicament malgré que nos extraits de trois plantes sont riches en flavonoïdes.

**Tableau 14 :** l'activité d'inhibition de l'alpha amylase

Extrait	<i>O. floribundum</i>			<i>O.vulgar</i>	<i>O.majorana</i>
	feuille	tige	Fleure		
IC <sub>50</sub> mg/ml	2	0.9	0.75	1.05	0.98
% Activité d'inhibition	13.68	36.86	44.14	33.97	35.42

## II.1. Discussion

la présente étude a pour but de tester l'effet de différents extraits (T1, T2, T3, T4, T5) des trois plantes.

Au cours de la préparation des extraits, les rendements en masse de ces extraits (T1, T2, T3, T4, T5) sont variables d'extrait successivement (18.86%, 4.71%, 17.71%, 16.66%, 16.66%) , sauf l'*O. vulgare* et *O. majorana* on obtenu le même rendement , le tige d'*Origanum floribundum* est très faible par rapport aux autres extraits. De ce fait, on constate que le rendement d'extraction dépend de la méthode d'extraction, et la polarité de réactifs utilisés et il s'en suit que la solubilité des substances contenues dans les trois plantes.

Les résultats de tests phyto-chimiques d'*O. vulgare* montrent qu'il y a une similitude aux groupes chimiques existants en comparaison avec l'étude de BEN DIFALLAH et al (2015) . De même , les tests phyto-chimiques réalisés par VASUDEVA (2015) sur d'*O. majorana* et *O.floribundum* sont en accord avec nos résultats sauf en ce qui concerne des sucres réducteurs qui sont révélés dans nos extraits .

Le criblage phyto-chimique des extraits (T1, T2, T3; T4, T5) des trois plantes a révélé la présence des flavonoïdes, saponosides et les sucres réducteur dans la majorité des extraits. Alors que les tanins, terpénoïdes et L'antra quinone,quinone libre et les alcaloïde a révélé une absence totale dans la majorité des extraits.

La présence de ces métabolites secondaires au niveau des trois plantes étudiées explique leur fort pouvoir thérapeutique . Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de ces trois plantes dans la médecine traditionnelle par la population locale .Effectivement , les tanins , les flavonoïdes , les saponosides et les terpènes possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment



antimicrobiennes , anti oxydante , anti inflammatoires , vasculo-protectrices , antiulcéreuses, anti diabétique et etc... (BOUHADDOUDA ., 2016 ; LABIOD., 2016).

Les résultats de la CCM ont révélé que les différents extraits d' *Origanum* sont riches en composés phénoliques avec la présence de certains tâches qui ne correspondent pas aux phyto-composés possibles ; il s'agit à d'autres métabolites secondaire, ceci est confirmé par les résultats de tests phyto-chimiques réalisés sur ces extraits (0 .A;2012 ).

Ces résultats sont nettement inférieur à nos résultats. Ces variations sont probablement liées à un facteur écologique qui concerne, l'espèce, le sol et le climat. Ces facteurs peuvent jouer un rôle dans la teneures de ces composées phénoliques (hadje moussa .A;2012 ).

Les chromatogramme des extraits hexaniques ont été obtenus avec un gradient n- $C_6H_{14}/AcOEt$  , (8;1.9 ; v/v ) . l'héxane extrait les matières grasses et certains métabolites secondaires tels que les stérols et les terpènes . pour mettre en évidence ces derniers , le réactifs de liebermann-burchard a confirmé notre assertion(MAMYRBEKOVA .B et al; 2012). en effet , il a révélé d' une part, les triterpènes de type lupane en orangé sous UV /366nm et d' autre part , les stéroïdes sous forme de taches jaunes sous UV/366nm on observé dans nous travaux sauf T2 (tige d'O. *floribundum* ) ne y a pas une composée de phyto-composés possibles ; le T1( feuille d' O. *floribundum* ) ; T3 (fleur d'O.*floribundum* )et T4 (O. *vulgar*) a Rf successivement 0.24;0.5 et 0.2 donne les tache jaune qui défini le stéroïdes et les autres phyto-composés possibles est absent .mais , T5 (O. *majorana* ) aRf= 0.2 donne les tache orange qui défini le triterpénelupane . (MAMYRBEKOVA .B et al; 2012)

Le resulta de chromatogramme des extraits chloroformique ont été employés a cet effet . le développant choisi pour faire migrer ces composés est un mélange cyclohexane / AcOEt (10:8 ; v/v) . on as des révélateurs pour recherchés les photocomposés possibles comme ( $FeCl_3$ ) et Liebermann-burchard . dans nous travaux, dans T2 et T5 ne y a pas des composés, le T1( feuille d' O. *floribundum* ) a Rf = 0.64et le T3(fleur d'O.*floribundum* ) donne deux taches jaune a Rf successivement 0.23, 0.27 qui définit le tanin mais le T4(O. *vulgare* ) a Rf=0.28 défini l Saponine stéroïdien.

Le CCM des extrais d' acétate éthyliques ont été obtenus avec le solvant de migration  $AcOEt/CHCl_3/ AcOH$  dans les proportions 8:7:0.5 (v/v/v) et des révélateurs spécifiques pour recherchés phyto-composés possibles comme ( $FeCl_3$ ) , liebermann-burchard et  $AlCl_3$  il y a révèles des taches de coumarines et flavonoïde(MAMYRBEKOVA .B et al; 2012). Le T2 et T5 ne y a pas une composée de phyto-composés possibles ; dans les T1 a Rf= 0.64 sous forme de taches jaunes sous UV/366nm et sans révélateur qui défini les flavonoïdes ; le T3 obtenu une tache jaune sous

UV/ 366 nm et sans révélateur qui définit le flavonoïde et une tache bleu sous UV/366nm et avec révélateur qui définit le coumarines ; mais le T4 obtenu deux tache le premier tache orange visible et le deuxième tache orange avec le révélateur  $AlCl_3$  .

Dans ces extraits , nous avons cherché à identifier les poly phénols et les spécifiques aux flavonoïdes ( $AlCl_3$ ) ; aux tanins ( $FeCl_3$ ) . pour faire migrer ces composés , nous avons utilisé respectivement les gradients :  $AcOEt/EtOH/HCOOH/H_2O$  , 10:1,1:1,1:3 (v/v/v/v) et  $PhCH_3/CH_3COCH_3/HCOOH$  , 3:5:1 (v/v/v) pour utilisée précédemment pour la détection et l'identification des phyto-composés , (MAMYRBEKOVA .B et al; 2012) . nous avons montré la présence de tanin dans le T2 et T5 par une tache bleu avec Rf successivement 0.5; 0.14 avec révélateur .mais dans les autres T1 ,T3,T4 absence des taches .

Nos résultats révèle que l'activité anti-oxydante d'*O.vulgare* plus Grande malgre ( $IC_{50}$ :40 $\mu$ g/ml) mais par rapport les autres extraits que l'activité anti-oxydante des extraits d'*O.majorana* et d'*O. floribundum*. Des études précédents ont rapporté une grande variation dans l'activité antioxydant des extraits d'*Origanum*.

En compare notre résultat aux précédents rapports , l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle de les espèces étudiées , *O. vulgare* développe une activité anti-oxydante basse . Une étude menée par HUSSAIN et al(2011) ont rapporté une haute activité anti-oxydante avec une valeur ( $IC_{50}$ : 65.5 $\mu$ g/ml) .

Ainsi , MECHERGUI et al (2015) réalise une étude sur les différentes populations *O.glandulosum* présentent une activité anti-oxydante plus élevée . Cependant une autre étude sur l'huile essentielle a montré une activité anti-oxydante faible puisque l' $IC_{50}$  rapportée s'élève à 1000 $\mu$ g/ml (JNAID et al ., 2016) . Le même constat pour l'huile essentielle d'*O.vulgare* d'El- Oued qui s'est avéré posséder une faible capacité anti-oxydante ( $IC_{50}$  =15360 $\mu$ g /ml) (BENCHIKHA, MENACEUR., 2013) .

Également , de pouvoirs antioxydants modérée de HE ont été rapportés dans travaux de BOUHADDOUDA (2016 ) et LANSEUR(2017) ont noté une valeur d' $IC_{50}$  461.62  $\mu$ g/ml et 306,09 $\mu$ g/ml respectivement.

Après la mise en évidence de différents composés de poly phénols par l'analyse qualitative par CCM dans nos extraits, nous avons étudié *in vitro* l'effet de ces extraits sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase. Les résultats obtenus ont démontré que dans tous les extraits de trois plantes ont un pourcentage d'inhibition moins de 50 %

Les inhibiteurs d'enzyme peuvent agir selon des mécanismes varies, en se combinant soit avec l'enzyme (compétitive avec le substrat ou in compétitive), soit avec le complexe enzyme-substrat (non compétitive), soit avec le substrat lui-même (**Weinman et al., 2004**).

L'activité enzymatique peut être affectée de façon spécifique par de nombreux agents chimiques de la digestion de l'amidon, Il peut ainsi se lier aux sites de l' $\alpha$ -amylase pancréatique, inhiber puissamment, de façon compétitive et dose-dépendante (**Scheen et al., 2002**). Certains plantes ont une activité inhibitrice enzymatique inclue les composés polyphénoliques et glyco-protéiques(**Tundis et al.,2010**). Plusieurs de ces polyphénols ont une action sur l' $\alpha$ -amylase tels que les tannins qui sont capables de se lier aux enzymes digestives et de les inhiber (**Kanda, 2004**).

En fonction de nos résultats ont obtenne sur l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, on suggère que *Oruganum* peut présenter un effet bénéfique .

# **Conclusion générale**

---

## *Conclusion général*

Les plantes médicinales sont plus utilisées depuis long temps puisqu'elles contiennent des composants chimiques possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Notre travail est dirigé vers la mise en évidence des propriétés anti-oxydantes, anti-enzymatique de trois plantes medicinales. Ainsi des études préliminaires phyto-chimiques des extraits aqueuse d'*O.majorana* , '*O.vulgare* et différentes organes d'*O.floribundum* montrent la présence d'un certain nombre de groupes chimiques tells que les terpènes , les polyphénols , les flavonoïdes et les saponosïdes et le rendement des extraits de trois plants étudiées.

L'analyses en chromatographie sur couche mince a montré qu' elles renferment des composés majeurs concernant les extrais sont : les tanins et triterpènes lupane , stérol , flavonoïde, coumarine , flavone méthylée , quercétine , flavonol ,

L'étude des effets anti-oxydante révèle que l'activité anti-oxydante d' extraits d'*O.vulgare* est plus grande que l'activité anti-oxydante d' autres extraits . En effet, elles peuvent réagir avec ces radicaux libres , en piégeant , inactivant et stabilisant ces radicaux libres (radicaux hydroxyles (OH·) , anions super oxydes (O·) .

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont révélé un effet inhibiteur intéressant des extraits d' *Origanum* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase. Cette inhibition est proportionnelle à la concentration de l'extrait, si en augmente la concentration plus le pourcentage d'inhibition est importante.

En perspective de viser l'étude vers d'autre voie plus fiable :d' utiliser HPLC pour obtenir des résultats qualitative précis . l' utilisation des techniques de dosage des polyphénols pour obtenir des résultats quantitative exacte et lorsqu' on utilise des concentrations suffisantes des extraits on va obtenir de meilleures résultats .

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

HADJ MOUSSA ,A. (2012). *Contribution à l'étude in vitro de l'effet des extraits de feuilles de Retama raetam sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase*. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid.

ABBES Amal. (2014). *EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOIDES VERTICILLATA « NOUKHA » DE LA REGION DE TLEMEN DU Diplôme de Master*. Tlemcen : Univercité Abou Bekr Belkaid.

AIT KAKI- EL-HADEF EL-OKKI H., LEGHLIMI2 S., DAKHMOUCHE L.,BENNAMOUN., Z MERAIHI.,. (2012). *utilisation de la planification experimentale pour l'optimisation de la production de l'  $\alpha$  - amylase par rhizopus oryzae*. *Rev. Microbiol. Ind.* (Vol. N°1).

Atawodi S. E. (2005.). *Antioxidant potential of African plants*.*African J. of Biotec.*

AYAIDIA B. (2011). *etude comparative de trois varietes d'huiles essentielles de menthe dans la region de Ouargla ., mémoire de magister*. ouargla.: Université kasdi marbah.

Baba Aissa F. (2000). *Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb,substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident*. Ed. Librairie moderne Rouiba, 46.

Baba Aissa F. (2000). *Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb,substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident*. Ed. Librairie moderne Rouiba, 46.

Baba Aissa, F. (2011). *Encyclopidie des plantes utiles. Editions El Maarifa., Alger*.

Banner, D. W., Bloomer, A. C., Petsko, G. A., Phillips, D. C., Pogson, C. I., Wilson, I. A., Corran, P. H., Furth, A. J., Milman, J. D., Offord, R. E., Priddle, J.D., and Waley, S. G. (1975). *Structure of chicken muscle triose phosphqtes isomérase determined crystallographically at 2.5 A° resolution: using amino acide sequence data*.

Beaudeux Jean-Louis ,Durand Geneviève ., (2008). *Biochimie médicale-Marqueurs actuels et perspectives*. (Vol. 2eme édition.). Paris .

BEKHECHI C. (2008). *Analyses les huiles essentielles de quelque espèces aromatiques de la région de Tlemcen par GC-RI, CC, GC-MS ,RMN et étude leur pouvoir antibactérienne .,thèse doctorat*.

Berger, M., and Que, Y. (2009). *"Traitement nutritionnel du grand brûlé."* *Réanimation*, (Vol. 18(8)).

Binov L.,. (2001.). *Oxydants/antioxydants : un équilibre important*.

BOUCHOUKA.E. (2016). *Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes*. ANNABA: UNIVERSITE BADJI MOKHTAR –

Boudjouref Mourad. (2011). *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L du diplôme de Magister*. Sétif: Université Ferhat Abbes.,

Boudjouref.M, (2011). *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L* (p. 99). , Sétif: memoire magister; Université Ferhat Abbes.

## Références bibliographiques

---

- BOUHADDOUDA N.AOUADI S., LABIOD R. (2016). *evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of origanum vulgare l. ssp.glandulosum (desf.) from Algeria ., international journal of pharmacognosy and phytochemical research.*
- BOUHADDOUDA Nabila. (2016). *Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local :Origanum vulgare et Mentha pulegium; du diplôme de Doctorat.* Annaba: Université d'Annaba.
- BOUKEZATA.A, (2014). *La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (Bunium Incrassatum),* (p. 60). mémoire de magister ., Sétif 1 .: Université Ferhat Abbas,.
- BOULIFA K. (2012)., *Synthèse hydrogéologique sur la region d'El-Oued Sahara nord oriental – Est Algérien* (p. 60). mémoire de master . Université Constantine 1.
- Boulila A., Béjaoui A., Messaoud C. and Boussaid M. (2008). *Variation of volatiles in tunisian populations of Teucrium polium L. (Lamiaceae).* Chemistry et Biodiversity.
- BOURAS Fatima Zohra et HOUCHI Abdelbasset. (2013). *ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE LA PLANTES Rumex Vesicarius L.* OUARGLA: UNIVERSITE KASDI MARBAH .
- BOUYAHYA A., (2016) *Les huiles essentielles comme agents anticancéreux :actualité sur le mode d'action. , Phytothérapie.* (pp. DOI 10.1007/s10298-).
- Burhan A., Unaldi N., Coral G., Colak O., Aygan A., Gulnaz O. (2003). *Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic,alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic Bacillus sp.Isolate ANT-6. Process Biochemistry.*
- CAILLAUD M A. (2013). *étude de l'espèce Origanum vulgare L ,thèse doctorant.* Université Nantes.
- CHACHA H .,MAYOU H. (2015). *etude des risques liés à la phytothérapie traditionnelle dans la région de Ouargla ., mémoire de magister.* Ouargla.: Université kasdi marbah.
- Charbonnel.B., (2010). *Les stratégies thérapeutiques du diabète de type 2 Type 2 diabetes treatment main options. La Lettre du Pharmacologue.*
- Chiba S. (1988). *Amyloglycosidase. In: Handbook of Amylases and related enzymes (The Amylase Research Society of Japan, éd.).*
- Cillard, (2006) J. *Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations.* (pp. 13:24-29.).
- COOLBEAR T., DANIEL R.M., MORGAN H.W.,. (1992). *The enzymes from extreme thermophils: bacterial sources, thermostabilities and industrial relevance. Advanced Biochemistry and Engineering Biotechnology.*
- Dacosta Y. (2003). *Les phytonutriments bioactifs.* Yves Dacosta (Ed). Paris.
- De Smet. P. (2002)., *Herbal remedies. N Engl J Med* (pp. 347(25): 2046-57.).



## Références bibliographiques

---

Delattre J., Beaudoux J.L. & Bonnefont-Rousselot D., (2005.). *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques*. Lavoisier, Paris.

DIPALI S., SHIV KUMAR J, KAMAKSHI S., KRATIKA N. (2016). *origanum majorana: a potential herb for functional food european journal of pharmaceutical and medical research*.

DJAHRA A B. (2014). *Etude phytochimique et activité antimicrobienne ,antioxydante,antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L.,thèse doctorat*. Annaba.: Université Badji Mokhtar.

DOYEM.S, B. (2015). Dans *Contribution à l'étude de l'hyperfluoruration des eaux souterraines de* (p. 45). Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued.

Eberhard T., Robert A .,Annelise,L. (2005). *Plante aromatiques, epics, aromates,condiments et huilles essentielles*.

Eisenberg DM ;(1993)., *Unconventional medicine in the United States*. (pp. 328: 246-52.). N Engl J Med.

FATHY M., S. M. (2009). *seasonal variation in the essential oil composition of origanum majorana l. cultivated in Egypt ., naturforsch*.

Favier A., (2003.). *Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique*. L'Actualité chimique.

FERHAT.M, (2016). *etude phytochimique et évaluation des activités biologiques des espèces : mentha aquatica, stachys guyoniana et thymus dreatensis (lamiaceae)*. UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI-CONSTANTINE.

Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. (2003). *Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method*. AAPS Pharm Sci.

Goetz .P. (2007). *Phytothérapie du diabète*.

Grimaldi.A, Hartemann.A, Heurtier, Jacqueminet.S, Bosquet.F, Masseboeuf.N, Halbron. M, Sachon.C ., (2009). *Guide pratique du diabète* (Vol. 4eme édition).

Haloui, M., Louedec, L., Michel, J.B, Lyoussi, B. (2000). *Experimental diuretic effects of Rosmarinus officinalis and Centaurium erythraea*. J Ethnopharmacology.

HAZZIT M. B. (2015)., *Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles*. (27) ,118-129p.

Iserin P. (2001). *Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations,sions* (Vol. 2nd edition). Dorling Kindersley Limited, Londres.

Jenkins, A.B., Campbell, L. V. (2004). *The genetics and pathophysiology of diabetes mellitus type II.J.Inherit. Metab.Dis*.

## Références bibliographiques

---

- KEATING L., KELLY C., FORGARTRY W., (1998). *Mechanism of action and the substrate dependant pH maximum shift of the- amylase of Bacillus coagulans*. *Carbohydrate Research*.
- KHOLKHAL. F. (2014). *Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus*. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid.
- LABIOD R. (2016). *Valorisation des huiles essentielles et des extraits de satureja calaminthanepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide* .,thèse doctorat. Annaba .: Université Badji Mokhtar.
- LANSEUR.R, (2017). *Evaluation in-vitro des activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles d'Origanum glandulosum et Rosmarinus officinalis seules et en combinaison*. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- Layer P. et al., (1987). *Mayo clinical proceedings*.
- Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. & Prost M., (2001). *Stress oxydant et pathologies humaines*. *Presse med.* (Vol. 30(21)).
- Li peiwu, (1999). *TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by videoscanning technology* . , (pp. (10) :123-187). *chemistry and nutrition*.
- Mahmoudi R., Nosratpour S. (2013). *Teucrium polium L. essential oil: phytochemiac component and antioxidant*. *International Food Research Journal*,. 20(4), 1697-1701.
- Mahmoudi S., Khali M. and Mahmoudi N. (2013). *Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.)*. *Revue « Nature & Technologie »*. *Sciences Agronomiques et Biologiques*, (Vol. 9).
- MAMYRBEKOVA-BEKRO.J., (2013) *sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes anti-hypertensives utilisées à N' gramanssabo en cote d'ivoire* (p. 12). *nature et technologie* .
- MANALLAH Ahlem. (2012). *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L* *Diplôme de Magister*. Sétif: Université Ferhat Abbas.
- MANTSALA P et ZALKIN H .., (1979). *J . Biol . Chem*.
- Marles R.J. (1995),. *Antidiabetic plants and their active constituents*. *Phytomedicine* (pp. 2: 137-189).
- Maza Chaffiâa. (2014). *Évaluation in vitro de l'activité antia-amylase et antilipase de l'extrait d'Orignum glandulosum Desf*. Bejaia: Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- MC CARTER J.D AND WITHERS S.G., (1996). *Unequivocal identification of Asp-214 as the catalytic nucleophile of Saccharomyces cervisiae -glucosidase using 5-fluoro glycosyl* .
- MERCIER C., (1985). *Les enzymes amylolytiques*. In Mauranch A & Costes C. (Ed):*Hydrolase et polymerases*.Ed. Gauthier Villars.

## Références bibliographiques

---

Millar Wayne J. ,Young T. Kue ,. (2003). *Évolution du diabète :prévalence, incidence et facteurs de risque. Rapports sur la santé.*

MOULIN G et GLAZY P.,. (1978). *Z. Allg. Mikrobiol.*

. MUELLER.M(2004)., *Randomized controlled trial of a traditional preparation of artemisia annua L. (annual wormwood ) in the treatment of malaria trans* (pp. 98,318-321). *R.SoC . Trop. Med.Hyg .*

NIETO G. (2017). *Biological activities of three essential oils of the lamiaceae family.,(4) 63.*

. Oubré AY, (1997). *From plant to patient: an ethromedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. Diabetologia* (pp. 40:614-617.).

*PDB (protein data base).* (2006).

Quezel et Santa. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie* (Vol. éditions du centre nationale de la recherche scientifique .). Paris.

Rabasa-Lhoret Rémi, Chiasson Jean-Louis,. (2000). *Inhibiteurs des alphaglucosidases . Médecine thérapeutique / Endocrinologie.*

Radermacherl, D'ORIO V. (2005). *URGENCES MÉDICALES EN DIABÉTOLOGIE : L'acidocétose et le coma hyperosmolaire.*

Reichl F.X., Benecke J., Benecke M., Eckert K.G., Erber B., Golly I.C., Kreppel H., Liebl B., Muckter H., Szinicz L. & Zilker T.,. (2004.). *Guide pratique de toxicologie.* (Vol. 1ère éd). Bruxelles.: De Boeck Université,.

Rodier, M. (2011). *Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire.*

Sahin, F., Gulluce , M. , Daferera, D., Sokmen , A., Sokmen, M., Polissiou,M.Agar, G.et Ozer, H. (2004). *Biological activities of the essential oil and Methanol extract of Origanumvulgaressp .vulgar in the Eastern Anatolia region of Turkey.Food Control.*

. SAIDJ F., (2007) *Extraction de l'huile essentielle de thym thymus numidicus kabylica.* mémoire de magister ., Université M'Hamed Bougara-Boumerdes.

SANJU B., SANJU D .,PINDER P. (2016). *Phytochemical analysis, phenolic compounds,condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (Origanum majorana) seed extracts.*

SBARGOUD A. (2009)., *diagnostic environnomental de la gare routière (pollutionatmosphérique par TSP et métaux lourds)* (p. 50). mémoire de magister . Université Moulod Mammeri Tizi Ouzou.

TAHRAOUI.F(2014)., *Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydanted'extrait de Pituranthos scoparius (Guezzah) par la méthode de réduction du fer : FRAP.,* (p. 56). Tlemcen.: mémoire de magister ., Université Aboubekr Belkaid.

## Références bibliographiques

---

- Taofiq M. (2016)., *Antiinflammator ypotential of mushroom extracts and isolated metabolites. Trend. Food* (pp. 50: 193–210.).
- Taofiq M. (2016)., *Antiinflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. Trend. Food* (pp. 50: 193–210.). Sci.Technol.
- Thorel Fabrizio ,Herrera Pedro L,. (2010). *Génération de cellules b-pancréatiques par conversion spontanée de cellules a chez des souris diabétiques .médecine et science.*
- Tielmans Amélie, Laloi-Michelin Marie, Coupaye Muriel , Virally Marie , Meas. (2007). *Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie).L a presse médicale.*
- UITDEHAAG J.C.M., MOSI R. KALK K. H., VANDER VEEN B. A. DIJKUIZEN L., WITHERS S.G ET DIJKSTRA B.W.,. (1999). *X-ray structure along the reaction pathway of cyclodextrin glycosyltransferase elucidate catalysis in the amylase family. Nat. Struct. Biol.*
- Vieira Andhira , Druelle Noémie , Courtne Monica , Avolio Fabio , Ben-Othman Nouha , Pfeifer Anja , Gjernes Elisabet, Faurite Biljana, Collombat Patrick. (2013). *Diabète :approches thérapeutiques émergentes Reprogrammation des cellules pancréatiques en cellules β. Médecine et science.*
- Wollinger. (2016), *Antioxidant activity of hydro distillation water residues from Rosmarinus officinalis L. leaves determined by DPPH assays.* (pp. 19: 754–765.). Comptes Rendus Chim.
- ZENSANI L. (2014). *Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de thymus satureioides Coss et d'Origanum compactum Benth et du genre nepeta et évaluation de leur propriété antibactérienne .,thèse doctorat. Agdal .: Université Mohammed V.*
- HADJ MOUSSA ,A. (2012). *Contribution à l'étude in vitro de l'effet des extraits de feuilles de Retama raetam sur l'activité de l'α-amylase.* Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid.
- ABBES Amal. (2014). *EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOIDES VERTICILLATA « NOUKHA » DE LA REGION DE TLEMEN DU Diplôme de Master.* Tlemcen : Univercité Abou Bekr Belkaid.
- AIT KAKI- EL-HADEF EL-OKKI H., LEGHLIMI2 S., DAKHMOUCHE L., BENNAMOUN., Z MERAIHI.,. (2012). *utilisation de la planification experimentale pour l'optimisation de la production de l' α - amylase par rhizopus oryzae. Rev. Microbiol. Ind.* (Vol. N°1).
- Atawodi S. E. (2005.). *Antioxidant potential of African plants.African J. of Biotec.*
- AYAIDIA B. (2011). *etude comparative de trois varietes d'huiles essentielles de menthe dans la region de Ouargla ., mémoire de magister. ouargla.: Université kasdi marbah.*
- Baba Aissa F. (2000). *Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb,substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident.* Ed. Librairie moderne Rouiba, 46.
- Baba Aissa F. (2000). *Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb,substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident.* Ed. Librairie moderne Rouiba, 46.

## Références bibliographiques

---

- Baba Aissa, F. (2011). *Encyclopedie des plantes utiles*. Editions El Maarifa,. Alger.
- Banner, D. W., Bloomer, A. C., Petsko, G. A., Phillips, D. C., Pogson, C. I., Wilson, I. A., Corran, P. H., Furth, A. J., Milman, J. D., Offord, R. E., Priddle, J.D., and Waley, S. G. (1975). *Structure of chicken muscle triose phosphates isomerase determined crystallographically at 2.5 Å resolution: using amino acid sequence data*.
- Beaudeau Jean-Louis ,Durand Geneviève ., (2008). *Biochimie médicale-Marqueurs actuels et perspectives*. (Vol. 2eme édition.). Paris .
- BEKHECHI C. (2008). *Analyses les huiles essentielles de quelque espèces aromatiques de la région de Tlemcen par GC-RI, CC, GC-MS ,RMN et étude leur pouvoir antibactérienne* ,thèse doctorat.
- Berger, M., and Que, Y. (2009). "Traitement nutritionnel du grand brûlé." *Réanimation*, (Vol. 18(8)).
- Binov L.,. (2001.). *Oxydants/antioxydants : un équilibre important*.
- BOUCHOUKA.E. (2016). *Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes*. ANNABA: UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – .
- Boudjouref Mourad. (2011). *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L du diplôme de Magister*. Sétif: Université Ferhat Abbes,.
- Boudjouref.M.(2011), *Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L* (p. 99). , Sétif: memoire magister; Université Ferhat Abbes.
- BOUHADDOUDA N.AOUADI S., LABIOD R. (2016). *evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of origanum vulgare l. ssp.glandulosum (desf.) from Algeria ., international journal of pharmacognosy and phytochemical research*.
- BOUHADDOUDA Nabila. (2016). *Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local :Origanum vulgare et Mentha pulegium; du diplôme de Doctorat*. Annaba: Université d'Annaba.
- BOUKEZATA.A(2014)., *La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (Bunium Incrassatum).*, (p. 60). mémoire de magister ., Sétif 1 .: Université Ferhat Abbas,.
- . BOULIF A. K(2012), *Synthèse hydrogéologique sur la region d'El-Oued Sahara nord oriental – Est Algérien* (p. 60). mémoire de master . Université Constantine 1.
- Boulila A., Béjaoui A., Messaoud C. and Boussaid M. (2008). *Variation of volatiles in tunisian populations of Teucrium polium L. (Lamiaceae)*. Chemistry et Biodiversity.
- BOURAS Fatima Zohra et HOUCHI Abdelbassset. (2013). *ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE LA PLANTES Rumex Vesicarius L*. OUARGLA: UNIVERSITE KASDI MARBAH .



## Références bibliographiques

---

- BOUYAHYA. A. (2016), *Les huiles essentielles comme agents anticancéreux :actualité sur le mode d'action.* , *Phytothérapie.* (pp. DOI 10.1007/s10298-).
- Burhan. A., Unaldi N., Coral G., Colak O., Aygan A., Gulnaz O. (2003). *Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic,alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic Bacillus sp.Isolate ANT-6. Process Biochemistry.*
- CAILLAUD M A. (2013). *étude de l'espèce Origanum vulgare L ,thèse doctorant.* Université Nantes.
- CHACHA H .,MAYOU H. (2015). *etude des risques liés à la phytothérapie traditionnelle dans la région de Ouargla ., mémoire de magister.* Ouargla.: Université kasdi marbah.
- Charbonnel.B,. (2010). *Les stratégies thérapeutiques du diabète de type 2 Type 2 diabetes treatment main options. La Lettre du Pharmacologue.*
- Chiba S. (1988). *Amyloglycosidase. In: Handbook of Amylases and related enzymes (The Amylase Research Society of Japan, éd.).*
- (2006). Dans J. e. Cillard, *Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations.* (pp. 13:24-29.).
- COOLBEAR T., DANIEL R.M., MORGAN H.W.. (1992). *The enzymes from extreme thermophils: bacterial sources, thermostabilities and industrial relevance. Advanced Biochemistry and Engineering Biotechnology.*
- Dacosta Y. (2003). *Les phytonutriments bioactifs.* Yves Dacosta (Ed). Paris.
- De Smet P. (2002)., *Herbal remedies. N Engl J Med* (pp. 347(25): 2046-57.).
- Delattre J., Beaudoux J.L. & Bonnefont-Rousselot D.,. (2005.). *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques.* Lavoisier, Paris.
- DIPALI S., SHIV KUMAR J, KAMAKSHI S., KRATIKA N. (2016). *origanum majorana: a potential herb for functional food european journal of pharmaceutical and medical research.*
- DJAHRA A B. (2014). *Etude phytochimique et activitéantimicrobienne ,antioxydante,antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L.,thèse doctorat.* Annaba.: Université Badji Mokhtar.
- DOYEM.S, B. (2015). Dans *Contribution à l'étude de l'hyperfluoruration des eaux souterraines de* (p. 45). Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued.
- Eberhard T., Robert A .,Annelise,L. (2005). *Plante aromatiques, epics, aromates,condiments et huilles essentielles.*
- Eisenberg DM, (1993). *Unconventional medicine in the United States.* (pp. 328: 246-52.). N Engl J Med.

## Références bibliographiques

---

- FATHY M., S. M. (2009). *seasonal variation in the essential oil composition of origanum majorana l. cultivated in Egypt ., naturforsch.*
- Favier A.,. (2003.). *Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique.*
- FERHAT.M, (2016). *etude phytochimique et évaluation des activités biologiques des espèces : mentha aquatica, stachys guyoniana et thymus dreatensis (lamiaceae).* UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI-CONSTANTINE.
- Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. (2003). *Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemilumin escence medhod.* AAPS Pharm Sci.
- Goetz .P. (2007). *Phytothérapie du diabète.*
- Grimaldi.A, Hartemann.A, Heurtier, Jacqueminet.S, Bosquet.F, Masseboeuf.N, Halbron. M, Sachon.C ., (2009). *Guide pratique du diabète (Vol. 4eme édition).*
- Haloui, M., Louedec, L., Michel, J.B, Lyoussi, B. (2000). *Experimental diuretic effects of Rosmarinus officinalis and Centaurium erythraea. J Ethnopharmacology.*
- HAZZIT. M. B. (2015), *Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles.* (27) ,118-129p.
- Iserin P. (2001). *Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations,sions* (Vol. 2nd edition). Dorling Kindersiey Limited, Londres.
- Jenkins, A.B., Campbell, L. V. (2004). *The genetics and pathophysiology of diabetes mellitus type II.J.Inherit. Metab.Dis.*
- KEATING L., KELLY C., FORGARTRY W.,. (1998). *Mechanism of action and the substrate dependant pH maximum shift of the- amylase of Bacillus coagulus. Carbohydrate Research.*
- KHOLKHAL. F. (2014). *Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus.* Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid.
- LABIOD R. (2016). *Valorisation des huiles essentielles et des extraits de satureja calaminthanepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide .,thèse doctorat.* Annaba .: Université Badji Mokhtar.
- LANSEUR.R, (2017). *Evaluation in-vitro des activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles d'Origanum glandulosum et Rosmarinus officinalis seules et en combinaison.* Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- Layer P. et al., (1987). *Mayo clinical proceedings.*
- Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. & Prost M.,. (2001). *Stress oxydant et pathologies humaines. Presse med.* (Vol. 30(21)).

## Références bibliographiques

---

- Li peiwu H. (1999), *TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by videoscanning technology* . , (pp. (10 ) :123-187). chemistry and nutrition.
- Mahmoudi R., Nosratpour S. (2013). *Teucrium polium L. essential oil: phytochemical component and antioxidant. International Food Research Journal*,. 20(4), 1697-1701.
- Mahmoudi S., Khali M. and Mahmoudi N. (2013). *Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.)*. Revue « Nature & Technologie ». *Sciences Agronomiques et Biologiques*, (Vol. 9).
- MAMYRBEKOVA-BEKRO.J, (2013). *sur l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes anti-hypertensives utilisées à N' gramanssabo en cote d'ivoire* (p. 12). nature et technologie .
- MANALLAH Ahlem. (2012). *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L* Diplôme de Magister. Sétif: Université Ferhat Abbas.
- MANTSALA P et ZALKIN H ., (1979). *J . Biol . Chem*.
- Marles R.J., (1995). *Antidiabetic plants and their active constituents. Phytomedicine* (pp. 2: 137-189).
- Maza Chaffiâa. (2014). *Évaluation in vitro de l'activité anti-α-amylase et antilipase de l'extrait d'Orignum glandulosum Desf*. Bejaia: Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- MC CARTER J.D AND WITHERS S.G., (1996). *Unequivocal identification of Asp-214 as the catalytic nucleophile of Saccharomyces cervisiae -glucosidase using 5-fluoro glycosyl* .
- MERCIER C., (1985). *Les enzymes amylolytiques. In Mauranch A & Costes C. (Ed):Hydrolase et polymerases.Ed. Gauthier Villars*.
- Millar Wayne J. ,Young T. Kue ,. (2003). *Évolution du diabète :prévalence, incidence et facteurs de risque. Rapports sur la santé*.
- MOULIN G et GLAZY P., (1978). *Z. Allg. Mikrobiol*.
- . MUELLER.M, (2004) *Randomized controlled trial of a traditional preparation of artemisia annua L. (annual wormwood ) in the treatment of malaria trans* (pp. 98,318-321). R.SoC . Trop. Med.Hyg .
- NIETO G. (2017). *Biological activities of three essential oils of the lamiaceae family.,(4) 63*.
- Oubré AY. C. T., (1997 ) *From plant to patient: an ethromedical approach to the identification of new drogs for the tratement of NIDDM. Diabetologia* (pp. 40:614-617.).
- PDB (protein data base)*. (2006).
- Quezel et Santa. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie* (Vol. éditions du centre nationale de la recherche scientifique .). Paris.
- Rabasa-Lhoret Rémi, Chiasson Jean-Louis,. (2000). *Inhibiteurs des alphaglucoSIDases . Médecine thérapeutique / Endocrinologie*.



## Références bibliographiques

---

- Radermacherl, D'ORIO V. (2005). *URGENCES MÉDICALES EN DIABÉTOLOGIE : L'acidocétose et le coma hyperosmolaire*.
- Reichl F.X., Benecke J., Benecke M., Eckert K.G., Erber B., Golly I.C., Kreppel H., Liebl B., Muckter H., Szinicz L. & Zilker T.,. (2004.). *Guide pratique de toxicologie*. (Vol. 1ère éd). Bruxelles.: De Boeck Université,.
- Rodier, M. (2011). *Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire*.
- Sahin, F., Gulluce , M. , Daferera, D., Sokmen , A., Sokmen, M., Polissiou,M.Agar, G.et Ozer, H. (2004). *Biological activities of the essential oil and Methanol extract of Origanum vulgaressp .vulgar in the Eastern Anatolia region of Turkey.Food Control*.
- SAIDJ. F;(2007)., *Extraction de l'huile essentielle de thym thymus numidicus kabylica*. mémoire de magister ., Université M'Hamed Bougara-Boumerdes.
- SANJU B., SANJU D .,PINDER P. (2016). *Phytochemical analysis, phenolic compounds,condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (Origanum majorana) seed extracts*.
- .. SBARGOUD,A. (2009)*diagnostic environnemental de la gare routière (pollutionatmosphérique par TSP et métaux lourds)* (p. 50). mémoire de magister . Université Moulod Mammeri Tizi Ouzou.
- . TAHRAOUI.F, (2014) *Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydanted'extraits de Pituranthos scoparius (Guezzah) par la méthode de réduction du fer : FRAP.*, (p. 56). Tlemcen.: mémoire de magister . , Université Aboubekr Belkaid.
- Taofiq; O. M., (2016). *Antiinflammator ypotential of mushroom extracts and isolated metabolites. Trend. Food* (pp. 50: 193–210.).
- Taofiq O. M., (2016). *Antiinflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. Trend. Food* (pp. 50: 193–210.). Sci.Technol.
- Thorel Fabrizio ,Herrera Pedro L,. (2010). *Génération de cellules b-pancréatiques par conversion spontanée de cellules a chez des souris diabétiques .médecine et science*.
- Tielmans Amélie, Laloi-Michelin Marie, Coupaye Muriel , Virally Marie , Meas. (2007). *Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie).L a presse médicale*.
- UITDEHAAG J.C.M., MOSI R. KALK K. H., VANDER VEEN B. A. DIJKUIZEN L.,WITHERS S.G ET DIJKSTRA B.W.,. (1999). *X-ray structure along the reaction pathway of cyclodextrin glycosyltransferase elucidate catalysis in the amylase family. Nat. Struct. Biol*.
- Vieira Andhira , Druelle Noémie , Courtne Monica , Avolio Fabio , Ben-Othman Nouha , Pfeifer Anja , Gjernes Elisabet, Faurite Biljana, Collombat Patrick. (2013). *Diabète :approches thérapeutiques émergentes Reprogrammation des cellules pancréatiques en cellules β. Médecine et science*.
- Wollinger A. P., (2016).*Antioxidant activity of hydro distillation water residues from Rosmarinus officinalis L. leaves determined by DPPH assays*. (pp. 19: 754–765.). Comptes Rendus Chim.

## Références bibliographiques

---

ZENSANI L. (2014). *Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de thymus satureioides Coss et d'Origanum compactum Benth et du genre nepeta et évaluation de leur propriété antibactérienne* .,thèse doctorat. Agdal .: Université Mohammed V.

## Références bibliographiques

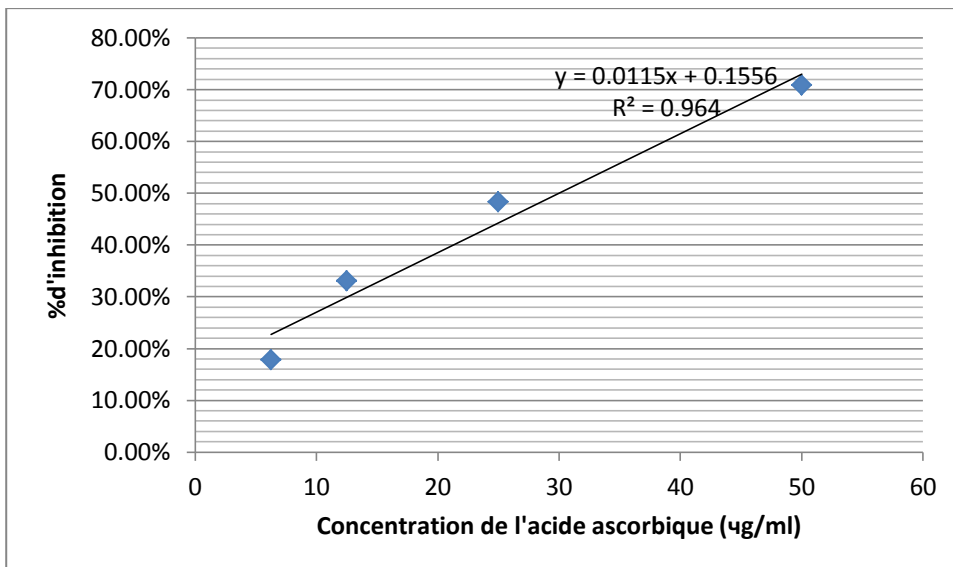
---

# **Les Annexes**

**Annex01: photo de bain de sable**

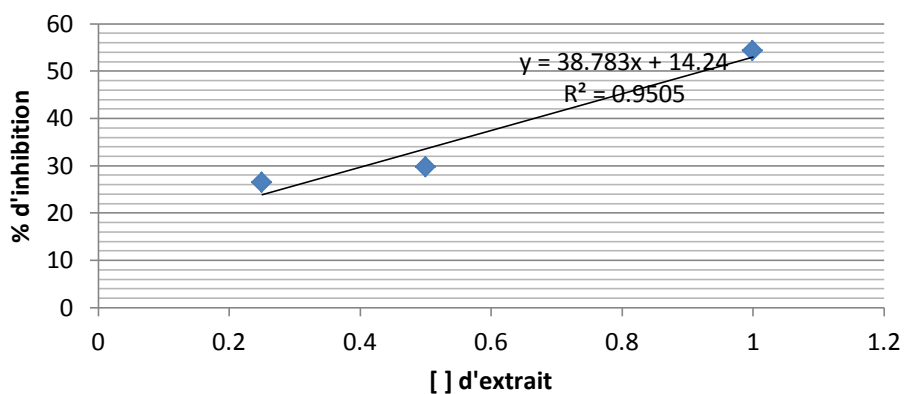


**Annex 02 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de Vitamine C**

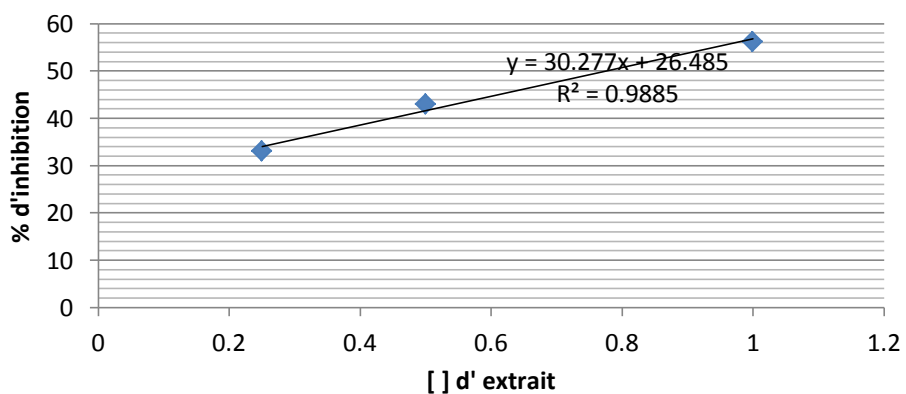


Annex 03:

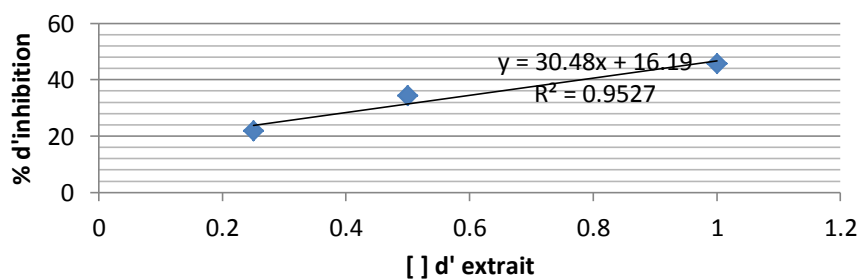
**activite d'ihnibition d'alpha amylase  
de tige d'O. flori bundum**



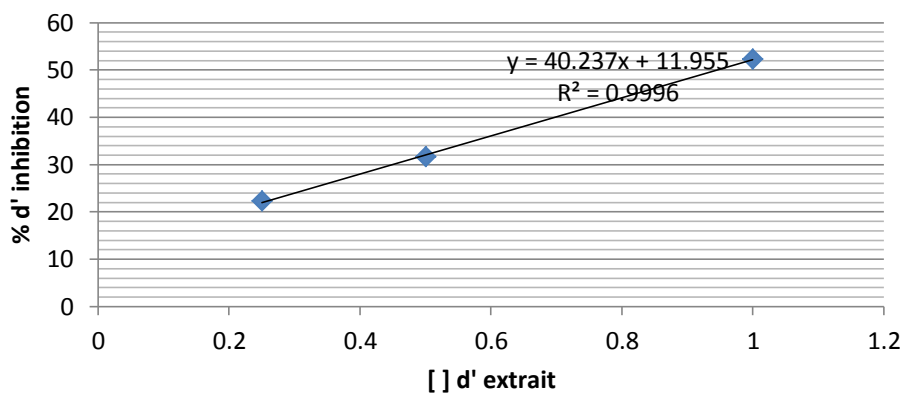
**activite d'inhibition d' alpha amylase  
de fleure d' O. flori bundum**



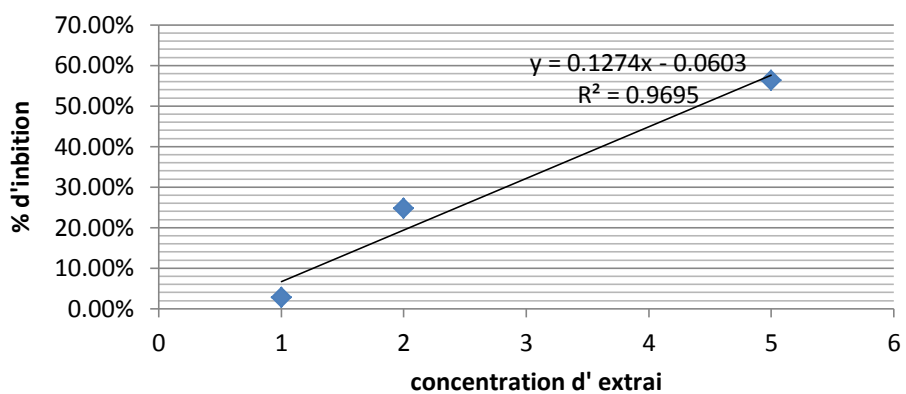
**activite d' inhibition d' alpha  
amylase de parti airriane de  
l'eoude**



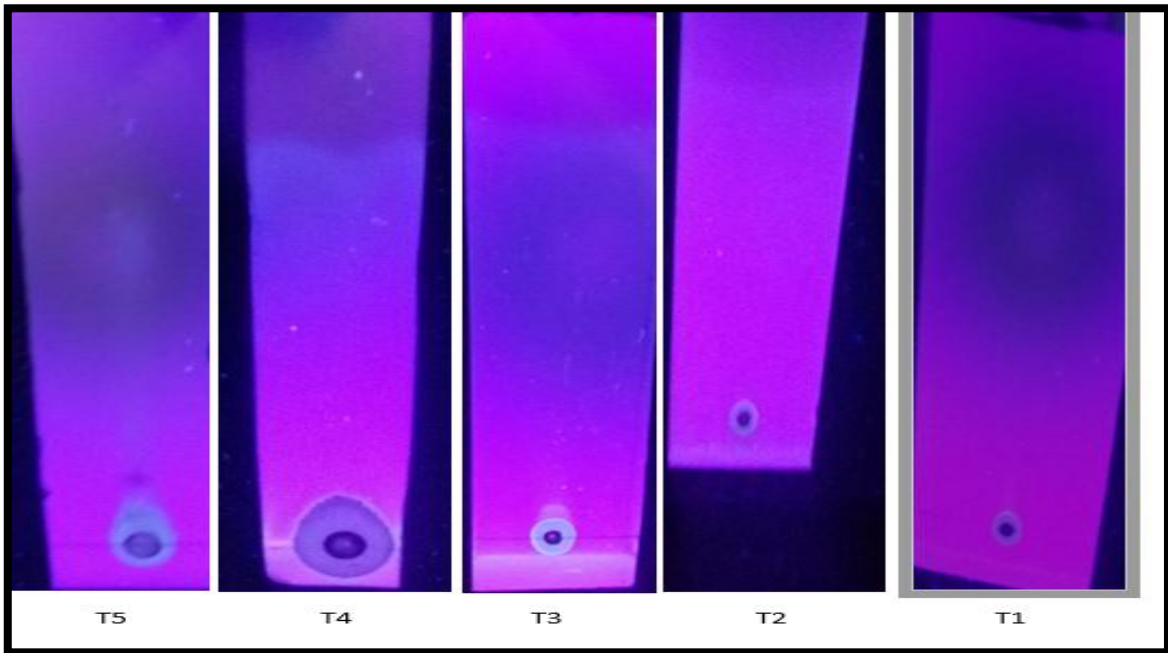
### activite d'inhibition d' alpha amylase de parti arienne de tiziouizou



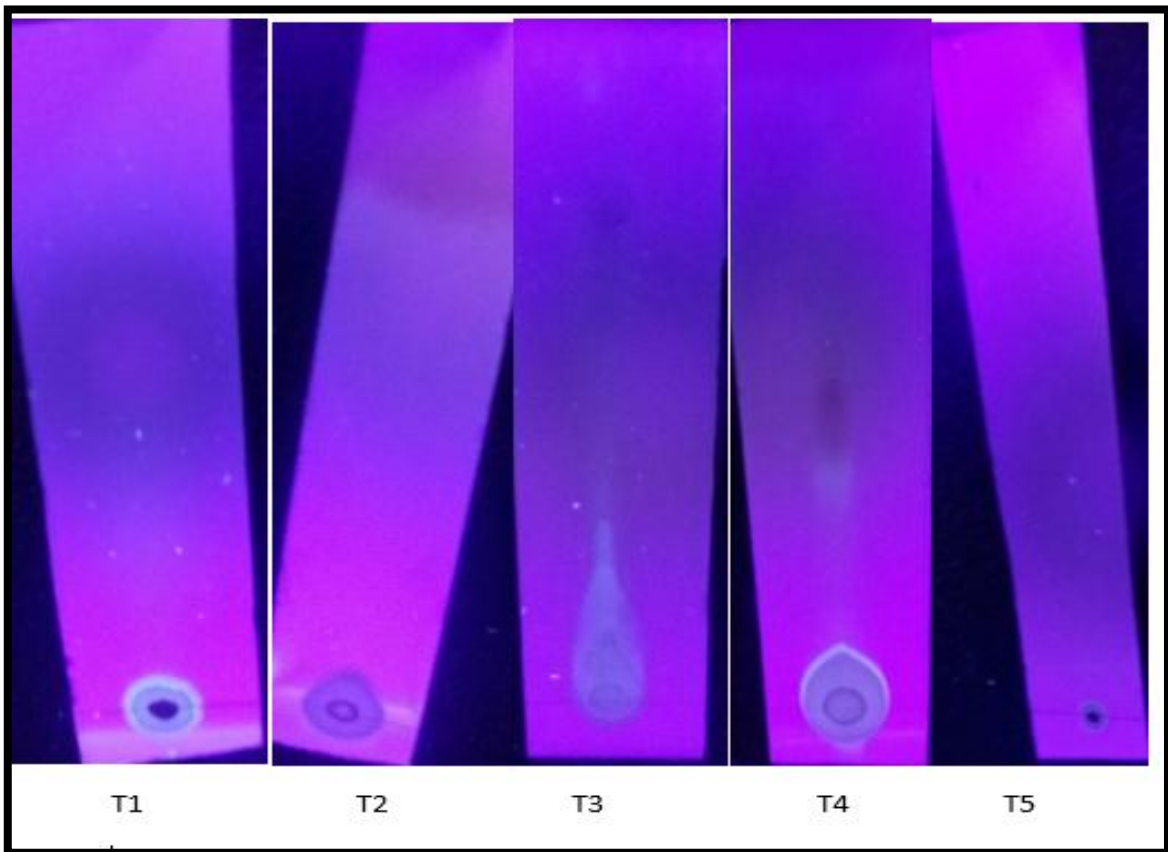
### courbe d' etalonnage de semiflore d' *O. floribandom*



**Annex 04 : Photos générique de plaque CCM de résultat de dans l'extrait hexanique de tous les organes de trois espèces étudiées**

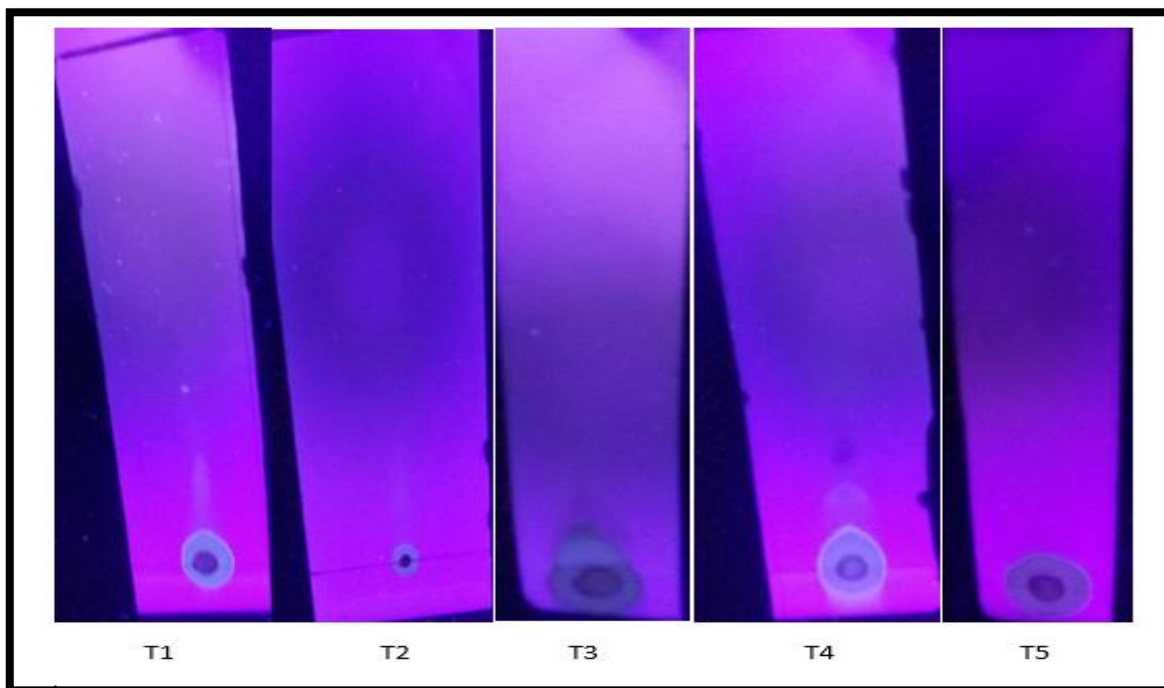


**Annex 05 : Photos générique de plaque CCM de résultat de dans l'extrait chloroformique de tous les organes de trois espèces étudiées**

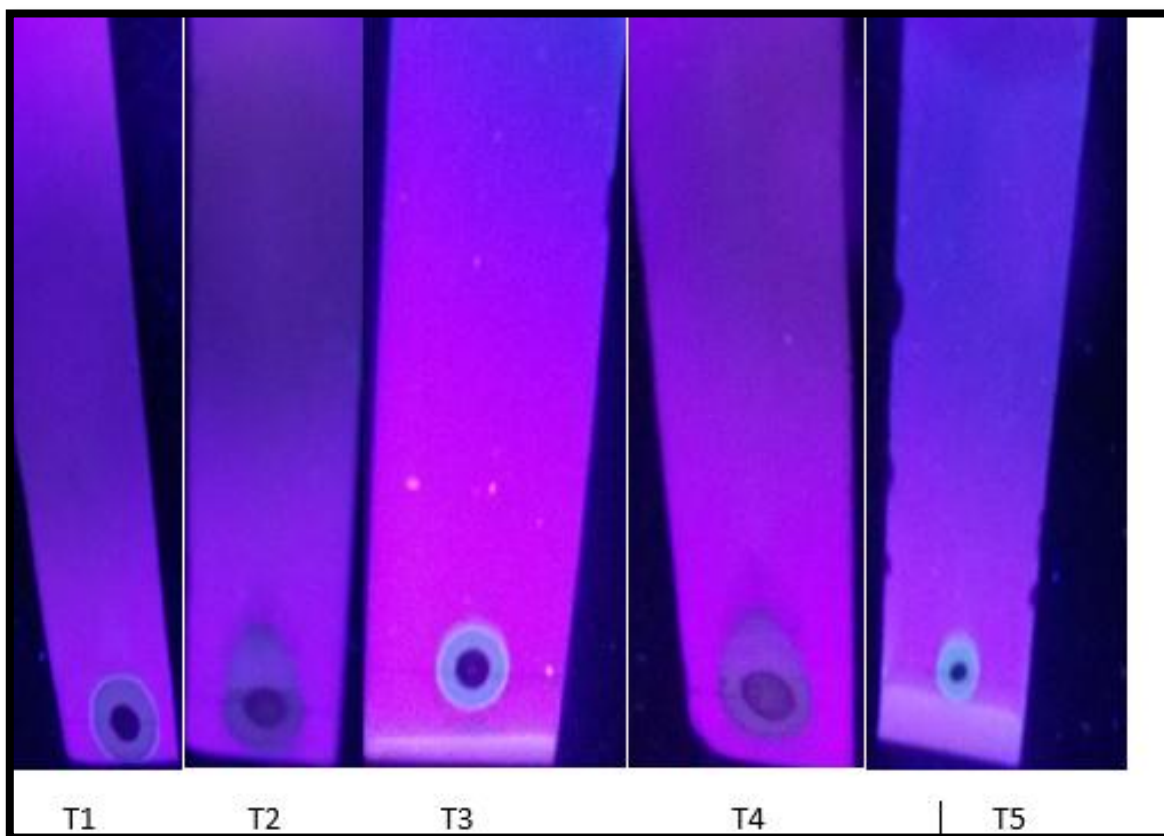




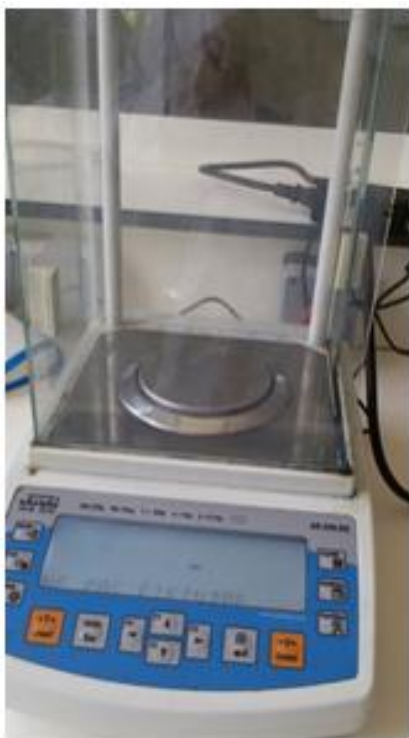
**Annex 06: Photos générique de plaque CCM de résultat dans les extraits acétate éthyliques de tous les organes de trois espèces étudiées**



**Annex 07 : Photos générique de plaque CCM de résultat dans les extraits n – butanolique de tous les organes de trois espèces étudiées**



## Annex 08 : les appareillage de laboratoire



## Résumé

Le genre *Origanum* appartient à la famille de Lamiacée; Dans notre étude, nous l'avons consacré à trois types d'origanum Et sont respectivement l'*O.vulgare* , *O.majorana* et *O.floribundum* . Les objectifs de cette étude sont l'étude quantitative des composées chimiques et l'évaluation de l'activité anti-oxydante et l' evaluation de l'activité d'anti-enzymatique des extraites de la partie aérienne d'*Origanum majorana L* collecté de la région d'El OUED ; d'*Origanum vulgare* collecté de TIZI OUZOU et L'extraction d'extrait d'*Origanum floribundum* . Les testes pré-eliminaire montrent la présence d'un certain nombre de groupes chimiques tels que les terpènes , les polyphénols , les flavonoïdes et les saponosides et le rendement des extraits de trois plants étudié est différent les deux extrais (feuille et fleur )d'*O.floribundum* les rendements est plus élevé de 18.86%, 17.83% respectivement , par rapports l' extrait d'*O.vulgare* et *O. majorana* , qui donne même rendement 16.66% . alors que l'extraits de tige d'*O.floribandom* présente faible rendement 4.71% . L' analyse par chromatographie sur couche mince est obtenu la présence d'un certain nombre de groupes chimiques concernant les extrais sont : les tanins et triterpènes lupane , stérol , flavonoïde, coumarine , flavone méthylée , quercétine , flavonol .

L'étude d'anti-oxydant des extraits a été effectuée par la méthode de DPPH , les résultats obtenus au l'extraits de tige d'*origanum floribandom* exercent une activité antioxydante faible avec  $IC_{50} = 2000 \mu g/ml$  et un AAI de 0.02 et pour l'extraits de fleur d'*origanum floribandom*  $IC_{50} = 4500 \mu g / ml$  et un AAI de 0.008 mais ; l' extraits de feuillier d' *origanum floribandom* exercent une activité antioxydante modérée avec  $IC_{50} = 51 \mu g / ml$  et un AAI de 0.78 ; l' *origanum vulgare* avec  $IC_{50} = 40 \mu g / ml$  et AAI= 1. Cependant , la capacité antioxydant de l'extrait des trois plantes restent moindre par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, la vitamine C ( $IC_{50} = 30 \mu g/ml$ ) et AAI=1.29.

L'étude d'anti-enzymatique a été effectuée par deux méthode le premier sans spectrophotomètre, le résultat est observé par la dégradation de couleur de réaction entre l'amidon et alpha amylase par le temps et le deuxième méthode avec spectrophotomètre , les résultats obtenus le différent résultat; on a le fleur d'*O.floribundum* est obtenu une pourcentage plus élevé 44.14% par rapport les autres et le tige d'*O. floribundum* obtenu le pourcentage faible 13% . mais; les deux autres plants *O.vulgare* , *O.majorana* obtenu le même pourcentage à peu près 35.42% et 33.97% successivement .

### Mots clés :

*Origanum* ; Merdegouche ; zaàtre ; activité antioxydant ; activité anti-enzymatique ; qualitative .

## الملخص

Origanum نبات ينتمي إلى عائلة Lamiaceae , و دراستنا ، كرسناها على ثلاثة أنواع من الزعتر وهي O.vulgare و O.majorana و O.floribundum على التوالي.

تتمثل أهداف هذه الدراسة في الدراسة الكمية للمركبات الكيميائية وتقييم نشاط مضادات الأكسدة وتقييم النشاط المضاد للإنزيمات لمستخلصات الجزء الجوي من *Origanum majorana* L التي تم جمعها من منطقة الوادي و من *Origanum vulgare* التي تم جمعها من TIZI OUZOU واستخراج مستخلص *Origanum floribundum* . التي تُظهر اختبارات ما قبل الإزالة وجود عدد من المجموعات الكيميائية مثل التربين والبوليفينول والفلافونويدات والسابونوزيدات ، كما أن غلة مستخلصات ثلاثة نباتات المدروسة تختلف عن بعضها البعض فالمستخلصين (الأوراق والزهور) أعلى بنسبة 18.86 % ، 17.83 % على التوالي ، وفقا لمستخلص *O. vulgare* و *O. majorana* ، والتي تعطي نفس العائد 16.66 % . بينما مقتطفات جذعية *O. floribundum* لها غلة منخفضة تبلغ 4.71 % . يتم الحصول على التحليل باستخدام كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة بوجود عدد من المجموعات الكيميائية المتعلقة بالمقتطفات وهي: العفص والثالين التروبين ، والستيروول ، والفلافونويد ، والكومارين ، والفلافون الميثيل ، والكيرستين ، والفلافونول . كما أجرينا للدراسة المضادة للأكسدة للمستخلص بواسطة طريقة DPPH ، والنتائج التي تم الحصول عليها باستخدام المستخلص الجذري للأوريغينوم فلوريبندوم تمارس نشاطاً ضعيفاً مضاداً للأكسدة مع  $IC_{50} = 2000$  ميكروغرام / مل و  $AAI = 0.02$  ول مقتطف زهرة من *Origanum floribundum*  $IC_{50} = 4500$  ميكروغرام / مل و  $AAI$  من 0.008 ولكن ؛ مستخلص من نبات *Origanum floribundum* يمارس نشاطاً معتدلاً مضاداً للأكسدة مع  $IC_{50} = 51 \mu g / ml$  و  $AAI = 0.78$  ؛ فولجان أوريغانوم مع  $IC_{50} = 40$  ميكروغرام / مل و  $AAI = 1$  ومع ذلك ، فإن قدرة مضادات الأكسدة في استخراج النباتات الثلاثة لا تزال منخفضة مقارنة بمضادات الأكسدة الاصطناعية المرجعية ، فيتامين (C)  $IC_{50} = 31 \mu g / mg$  و  $AAI = 1.29$  كما أجريت الدراسة المضادة للإنزيمات بطريقتين ، الأولى دون مقياس طيفي ، والنتيجة لوحظت من خلال التدرج اللوني الناتج عن التفاعل بين النشاء وألفا الأميليز بمرور الوقت والطريقة الثانية بالمقياس الطيفي ، فالنتائج التي تم الحصول عليها مختلفة متمثلة في مايلي زهرة *O. floribundum* يتم الحصول على نسبة نبض عالية 44.14 % مقارنة مع الآخرين وساق *O. floribundum* تمثل نسبة منخفضة 13 % . ولكن؛ حصلت الشتلتان الأخريان *O. vulgare* ، *O. majorana* على نفس النسبة المئوية 35.42 % و 33.97 % على التوالي.

## كلمات البحث :

Merdegouche , Zaatre , l'origanum و النشاط المضادة للأكسدة , النشاط المضاد للإنزيمات النوعية.