



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
*Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques*  
*Chimie des Molécules Bio Actives*

***Valorisation de la plante *Origanum compactum* : Etude  
phytochimique et évaluation de quelques activités  
biologiques***

***Présenté par : Naima SAOU***

***Encadré par :***

- ***Pr. Khadija MOUGHAMIR*** (FST-Fès)
- ***Dr. Chaimae RAIS*** (ANPMA-Taounate)

***Soutenu le 13 juillet 2021 Devant le jury composé de :***

- ***Pr. Khadija MOUGHAMIR***
- ***Dr. Chaimae RAIS***
- ***Pr. Ahmed BOULAHNA***
- ***Pr. Hassan GRECHE***

**Stage effectué à ANPMA-Taounate**

**Année universitaire : 2020-2021**

## ***Remerciement***

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce travail.

Je tiens à remercier vivement Mr Abdelkhalek FAR-HAT, Directeur de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques, qui m'a donné l'opportunité d'effectuer ce stage de fin d'étude.

J'adresse également mes sincères remerciements à mon encadrante Dr. Chaimae RAIS, Responsable du Laboratoire de Botanique au sein de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques, pour son accueil. Je la remercie très vivement pour sa bienveillance, leur aide et soutien moral, ainsi que pour la confiance dont elle a toujours fait preuve à mon égard.

J'exprime ma profonde gratitude et immense respect à mon encadrante Khadija MOUGHAMIR professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, de sa disponibilité, de m'avoir encadrée durant ma période de stage et de son soutien.

Mes remerciements s'adressent également à la doctorante Chaimae SLIMANI, pour sa contribution dans l'élaboration de ce travail, le partage de son expertise au quotidien et son temps accordé. Pour ses conseils précieux qui m'ont permis de réaliser mon sujet de fin d'études dans des bonnes conditions.

Mes remerciements s'adressent aussi aux membres de jurys et à tous les enseignants qui ont assuré ma formation. Je remercie aussi tous les personnels de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques qui m'ont aidé à faire ce travail, également toute personne ayant contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de ce projet.

## **Résumé**

*Origanum compactum* Benth est l'une des espèces médicinales les plus utilisées en médecine traditionnelle en raison de leurs propriétés biologiques diverses. Dans la présente étude, nous avons cherché à évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits organiques des sommités fleuries d'*Origanum compactum* collecté de la région Ghafsai – Taounate Maroc. L'extraction a été réalisée par macération et sonication. Par la suite, cinq extraits ont été préparés, méthanolique, éthanolique, aqueux, hydro-éthanolique et hydro-méthanolique. Les contenus en polyphénols totaux, flavonoïdes et en tanins condensés ont été déterminés respectivement par la méthode de Folin-Ciocalteu,  $AlCl_3$  et HCL. Les dosages effectués ont révélé que l'extrait hydro-éthanolique par macération est le plus riche en polyphénols (200.559 mg EAG/g d'extrait) et en flavonoïdes (199.75 mg EQ/g d'extrait). Cependant, le dosage des tanins condensés a révélé que l'EHE par sonication donne la valeur la plus élevée (4.9 mg/g). Le pouvoir antioxydant a été effectué par le test de DPPH et le CAT. Ainsi, les résultats obtenus ont prouvé que l'EHE par macération est le plus actif pour les deux méthodes étudiées (DPPH, CAT). En outre, l'activité antibactérienne a été testée par la méthode de micro-dilution contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. De ce fait, nous avons pu montrer que l'extrait hydro-éthanolique par sonication présente un effet bactéricide contre les quatre souches évaluées. Les résultats obtenus peuvent être considérés comme très prometteurs et justifient la poursuite des recherches, entre autres, sur l'identification des composants antioxydants et antimicrobiens dans les extraits des plantes.

**Mots clés :** *Origanum compactum*, extrait, polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés, activité antioxydante, activité antibactérienne.

## *Liste des figures*

**Figure 1:** Structure de la Lutéoline, Galangine et de L'apigénine.

**Figure 2:** Structure de l'acide rosmarinique et de carvacrol.

**Figure 3:** Structures de quelques Phénols simples et acides phénoliques.

**Figure 4:** Structures chimiques de quelques flavonoïdes.

**Figure 5:** Transfer de la partie aérien sèche en poudre

**Figure 6:** Principe de réaction entre les flavonoïdes et  $AlCl_3$

**Figure 7:** Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire  $DPPH^{\bullet}$  et un antioxydante (RH).

**Figure 8:** Microplaque stérile à 96 puits.

**Figure 9:** Teneur en polyphénols des différents extraits étudiés d'*Origanum compactum* par macération et sonication.

**Figure 10:** Teneur en flavonoïdes des extraits étudiés d'*Origanum compactum* par macération et sonication.

**Figure 11:** Teneur en tanins condensés des différents extraits d'*Origanum compactum*

**Figure 12:** Capacité antioxydante totale des différents extraits d'*Origanum compactum* par macération et sonication.

**Figure 13:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits par macération et le BHT.

**Figure 14:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits par sonication et le BHT.

**Figure 16 :** Rendement de l'EHE de la plante *Origanum compactum* par macération et sonication.

## *Liste des tableaux*

**Tableau 1** : Proportion des solvants utilisés.

**Tableau 2** : Souches utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne

**Tableau 3** : Valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits testés et de BHT

**Tableau 4** : Résultats de l'activité antibactérienne de l'EHE par sonication et macération sur les différentes souches étudiées.

**Tableau 5** : Valeurs de la concentration minimale inhibitrice

**Tableau 6** : Effet bactéricide ou bactériostatique de l'*Origanum compactum*

## *Abréviations*

**ANPMA:** Agence nationale des plantes médicinales et aromatiques.

**PMA:** Plantes médicinales et aromatiques.

**OMS:** Organisation mondiale de la santé.

**HEOC:** Huile essentielle de l'*origanum compactum*.

**HE:** Huile essentielle.

**ATP:** Adénosine triphosphate.

**TPTZ:** Tripyridyltriazine.

**UV:** Ultra-violet.

**EA:** Extrait aqueux.

**EE:** Extrait éthanolique.

**EM:** Extrait méthanolique.

**EHE:** Extrait hydro-éthanolique.

**EHM:** Extrait hydro-méthanolique.

**MS:** Matière sèche.

**ES:** Extrait sec.

**R:** Rendement.

**IC<sub>50</sub>:** Concentration à 50 pourcent d'inhibition.

**S.a:** *Staphylococcus aureus*.

**B.s:** *Bacillus subtilis*.

**E.c:** *Escherichia coli*.

**P.a:** *Pseudomonas aeruginosa*.

**LB:** Lauria Bertani.

**UFC:** Unité formant colonie.

**CMI:** Concentration minimale inhibitrice.

**CMB:** Concentration minimale bactéricide.

**BHT:** Hydroxytoluène butylé

**DMSO:** Sulfoxyde de diméthyle.

**DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**CAT:** Capacité antioxydante totale.

**FRAP:** Ferric Reducing-Antioxidant Power

## *Présentation de l'ANPMA*



L'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (ANPMA) se situe environ 80 km au nord de la ville de Fès, dans la province de Taounate, est une agence qui a pour vocation tout ce qui concerne la filière des plantes médicinales et aromatiques (PMA) et les produits naturel. Généralement ces activités sont :

- Optimisation des techniques de ramassage, de culture, de récolte, de séchage et de conditionnement.
- Préparation et formation de nouveaux produits naturels à valeur ajoutée, destinés aux secteurs pharmaceutique, parfumerais, cosmétique, agro-alimentaire et chimique.
- Réalisation des études phytochimiques.
- Développement des prototypes d'équipements spécifiques à la nature des PMA.
- Promotion de la conservation, la valorisation, l'utilisation et l'intégration des produits naturels par la création des pépinières dans le cadre des projets de développement régional et / ou national relatif aux différents secteurs socioéconomiques.



# Table des matières

Introduction.....	1
<b>Partie I: Synthèse bibliographique</b>	
I- Plantes Médicinales et Aromatiques .....	2
1- Généralités.....	2
2- Utilisation des PMA au Maroc .....	3
II- Présentation de la plante <i>Origanum compactum</i> .....	3
1- Systématique .....	3
2- Description botanique.....	3
3- Distribution géographique.....	4
4- Exigences écologiques et culture.....	4
5- Période de récolte .....	5
6- Utilisation .....	5
7- Composition chimique et leur intérêt .....	6
7-1- Composition chimique.....	6
7-2- Rôles et intérêts .....	7
III- Composés phénoliques .....	8
1- Définition.....	8
2- Structure et propriété .....	8
2-1- Phénols simples et acides phénoliques .....	8
2-2- Flavonoïdes .....	9
2-3- Tanins condensés.....	10
IV- Méthodes d'extraction.....	10
1- Macération.....	10
2- Sonication.....	11
3- Hydrodistillation.....	11
4- Extraction par CO <sub>2</sub> super critique.....	11
V- Activités biologiques .....	11
1- Activité antioxydante et méthodes d'évaluation .....	11
1-1- Test de DPPH.....	12
1-2- Capacité Antioxydante Totale (CAT).....	12
1-3- $\beta$ -carotène .....	12

1-4-	Test de FRAP .....	13
2-	Activité antimicrobienne .....	13
2-1-	Activité antibactérienne.....	13
2-2-	Activité antifongique.....	13
3-	Autres activités .....	14
3-1-	Cytotoxicité .....	14
3-2-	Activité anti-mutagène .....	14
3-3-	Activité insecticide.....	14
<b><i>Partie II: Matériel et méthodes</i></b>		
I-	Matériel végétal .....	15
II-	Préparation des extraits.....	15
1-	Extraction par sonication.....	16
2-	Extraction par macération.....	16
3-	Rendement de l'extrait .....	16
III-	Analyse phytochimique .....	16
1-	Dosage des polyphénols totaux .....	16
2-	Dosage des flavonoïdes .....	17
3-	Dosage des tanins condensés.....	18
IV-	Evaluation de l'activité antioxydante de l' <i>Origanum compactum</i> .....	19
1-	Capacité Antioxydante Totale (CAT) .....	19
2-	Test de DPPH .....	19
VI-	Evaluation de l'activité antibactérienne de l' <i>Origanum compactum</i> par la méthode de micro dilution .....	21
1-	Les souches bactériennes utilisées.....	21
2-	Préparation de l'extrait .....	21
3-	Préparation des milieux de culture .....	21
4-	Réactivation des souches bactériennes .....	21
5-	Préparation de la suspension bactérienne .....	21
6-	Méthode de micro dilution sur milieu liquide .....	22
6-1-	Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) .....	22
6-2-	Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide .....	23

### ***Partie III: Résultats et discussion***

I-	Dosage des composés phénoliques.....	24
1-	Teneur en polyphénols totaux .....	24
2-	Teneur en flavonoïdes .....	24
3-	Teneur en tanins condensés.....	25
II-	Evaluation du pouvoir antioxydant. ....	26
1-	Capacité Antioxydante Totale (CAT) .....	26
2-	Test de DPPH .....	26
III-	Rendement des extraits.....	28
IV-	Evaluation du pouvoir antibactérien.....	29
1-	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) .....	29
2-	Concentration Minimale Bactéricide (CMB) .....	30
	Discussion.....	32
	Conclusion générale.....	35
	Références bibliographiques.....	36
	Annexe.....	42

## ***Introduction***

Les plantes médicinales et aromatiques (PMA) et surtout celles des zones désertiques sont d'une importance considérable, ils ont une priorité impérieuse en raison de leur valeur en tant que source potentielle de nouveaux médicaments et produits (Nefati et Sghaier, 2014). L'utilisation de ces plantes par l'homme est une pratique antique (Majinda et *al.*, 2001). De nos jours, la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle, ces plantes sont en effet utilisées pour soigner diverses maladies, comme elles servent à parfumer l'ambiance et le corps humain et à aromatiser des plats alimentaires. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Les PMA ont la capacité de tolérer les fortes températures et la sécheresse sévère grâce aux teneurs très élevées des substances bioactives qu'elles synthétisent en réponse aux différents stress et perturbations. Elles constituent par conséquent une source précieuse de nouveaux composés actifs et fonctionnels très utiles dans les aliments diététiques, comme en industries pharmaceutiques et parapharmaceutiques (Nefati et Sghaier, 2014). Le Maroc à une richesse floristique renferme d'ensemble d'espèces importantes et variées constituent une source de molécules naturelles bioactives. *Origanum compactum* Benth est l'une de ces espèces médicinales les plus importantes en termes d'ethnobotanique au Maroc. Elle attire l'attention de plusieurs travaux de recherche (Zeroual et *al.*, 2020), spécifiquement l'étude de leur huile essentielle. Cependant, l'étude de ces extraits n'est pas bien documentée. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier cette espèce cultivée dans la région de Ghafsai – Taounate Maroc. C'est une plante médicinale de la famille des Lamiaceae, reconnue par diverses propriétés médicinales, notamment l'activité antioxydante, antimicrobienne, anticancéreuse, insecticide et anti-mutagène (Dorman et *al.*, 2003 ; Bouhdid et *al.*, 2008 ; Khalfi et *al.*, 2008 ; Mezzoug et *al.*, 2007)

Pour cette raison, l'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne de l'*Origanum compactum*. Dans le cadre de cette étude, nous avons subdivisé notre travail en trois parties. La première repose sur la revue bibliographique. La seconde partie décrit le matériel végétal et les méthodes d'analyse. La troisième présente les résultats obtenus suivi par une discussion. Le travail est accompli par une conclusion générale et perspective.



***Partie I :***  
***Synthèse bibliographique***

## **I- Plantes Médicinales et Aromatiques**

### **1- Généralités**

Les Plantes Médicinales et Aromatiques (PMA) sont utilisées depuis au moins 7 000 ans avant notre ère par les hommes et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents. De nos jours, entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (Yvonne et Chadouli, 2012).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), "une plante médicinale est une plante qui contient dans un ou plusieurs de ses organes (feuille, tige, racine, etc.), des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique héli-synthèse". Alors qu'une plante aromatique est définie comme une plante qui contient suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs organes producteurs : feuilles, fleurs, tiges, fruits, racines etc...

L'intérêt des plantes médicinales ne réside donc pas dans l'exploitation des substances fondamentales qui entrent dans leur structure, comme le bois ou les fibres, ou qui leur servent de réserve comme les polyholosides ou les lipides, mais par le bénéfice de certains principes actifs qu'elles peuvent sécréter (sous l'effet de stress) appelés métabolites secondaires. Il s'agit des hétérosides, des essences, des flavonoïdes, des polyphénols, des tannins, des vitamines, des antibiotiques, des stéroïdes etc... Les huiles essentielles constituent les plus importants principes actifs des plantes médicinales et aromatiques. En plus de leur rôle dans l'adaptation des plantes aux conditions contraignantes du milieu, ces métabolites remplissent les principales fonctions suivantes: Pigmentation, action anti-herbivore (insectes/mammifères), composés antifongiques et antibactériens (phytoalexines), signalisation chimique (symbioses), substances de croissance ... (Neffati et Sghaier, 2014).

Les grands types de plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être définis par leur principal usage. On peut citer: plantes pour tisanes, boissons hygiéniques et d'agrément, plantes à usages cosmétiques, plantes à usages aromatiques et condimentaires, plantes à usages alimentaires, plantes à usages industriels, plantes médicinales (Yvonne et Chadouli 2012).

## **2- Utilisation des PMA au Maroc**

Le Maroc est un producteur traditionnel de PMA, il est l'un des principaux fournisseurs à l'échelle mondiale (de romarin, de verveine, de rose, de coriandre, de menthe pouliot, etc.) et un fournisseur exclusif de plusieurs huiles essentielles comme l'armoise, la camomille sauvage et la tanaïse annuelle. Par ses contrastes géographiques, le Maroc offre une gamme variée de bioclimats permettant l'installation d'une flore riche (plus de 4200 espèces) et une diversité de ressources phylogénétiques en PMA (600 espèces). A côté de ce contexte naturel prometteur, le Maroc dispose d'un savoir-faire ancestral : la médication par les plantes, leur utilisation pour l'aromatisation et la conservation des aliments. Plus d'une vingtaine d'espèces sont utilisées pour la production d'huiles essentielles ou d'autres extraits aromatiques destinés essentiellement à l'industrie de parfumerie et cosmétique ainsi que pour la préparation des produits d'hygiène et la formulation des arômes (Yvonne et Chadouli 2012).

## **II- Présentation de la plante *Origanum compactum***

### **1- Classification**

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

Embranchement: Spermaphytes

Sous-embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous-classe: Gamopétales

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: *Origanum*

Espèce: *Origanum Compactum* Benth

### **2- Description botanique**

*Origanum compactum* est une plante médicinale d'origine méditerranéenne très utilisée, appartient à la famille botanique des lamiacées au sein du genre *Origanum*. C'est une plante vivace haute de 50 à 80 cm et s'élargissant grâce à ses rhizomes rampants, à tiges pubescentes couvertes de poils longs, feuilles caulinaires ovales-ovoïdes, velues, inflorescences en épis denses et courts, très pourprés, bractées florales ovales-lancéolées, rigides, coriaces; fleurs grandes, calice à 5 dents et marges ciliées (Chafai elalaoui et al., 2014). Toute la plante dégage un parfum aromatique âcre et puissant, elle contient une huile essentielle très odorante.

La reproduction de l'*Origanum compactum* se fait par voie sexuée (graine) et asexuée (éclat de souche). Les modes de dissémination des graines les plus fréquents sont: la gravité, le vent, l'eau, les animaux (mammifères, oiseaux, insectes, etc.) et l'homme (Chafai elalaoui et *al.*, 2014).

### **3- Distribution géographique**

Bio géographiquement, *O. compactum* est une espèce originaire du bassin Méditerranéen (Chafai elalaoui et *al.*, 2014), se trouve au Maroc (pousse dans le Rif, Tanger, le centre-nord du Maroc, l'ouest du sud du Maroc, le Haouz, le Haut atlas et le sud de la péninsule ibérique (Jahandiez et Maire, 1934), le sud-ouest de l'Espagne et l'Afrique du Nord (Tutin et *al.*, 1972). C'est une herbe vivace qui pousse spontanément dans les forêts, broussailles et matorrals. Elle affectionne les sols drainés, les substrats calcaires, les buissons et les pâturages rocheux des plaines et des basses montagnes. La floraison a lieu en mi-juillet (Benabid, 2000).

### **4- Exigences écologiques et culture**

*Origanum compactum* se rencontre à des altitudes inférieures à 1000m. Dans le Maroc septentrional, on rencontre cette espèce sous les bioclimats semi-aride et subhumide à variantes chaude à fraîche au niveau des étages de végétation thermo-méditerranéen et méso-méditerranéen (Chafai elalaoui et *al.*, 2014). Cette espèce demande un sol très drainant et basique, et tolère les pH de 4,5 à 8,7. La plante exige un emplacement chaud et protégé et peut croître à une température allant de 5 à 28°C et une pluviométrie allant de 400 mm à plus de 2000 mm (De mastro, 1996). Arrosé assez régulièrement, mais sans excès. Cette plante aromatique apprécie les expositions ensoleillées à mi-ombre. Elle supporte la chaleur et éventuellement la sécheresse. Plus l'exposition est chaude et ensoleillée, plus les arômes de l'origan compact sont concentrés.

Le taux de germination est d'environ 60 %, les graines d'*Origanum* peuvent entrer en dormance, ce qui explique ce taux de germination réduit (De mastro, 1996). En effet, l'origan montre une germination plus importante à une température relativement basse avec un optimum de 15-20 °C (Costas et *al.*, 1995). Un traitement par la lumière peut améliorer le taux de germination (Vantooten et Pons, 1988), ainsi qu'un traitement par l'acide gibbérellique ou le nitrate de potassium KNO<sub>3</sub> (Pirbalouti, 2007).

Concernant la culture d'origan, et en raison du faible taux de germination et de la très petite taille des semences (1000 grains pèsent entre 0,1 et 0,2g), le bouturage ou le semis en pépinière suivis d'un repiquage sont souvent recommandés (Putievsky, 1983). La graine



prend généralement 2 à 3 semaines pour germer, la quantité de semences nécessaire pour ensemençer un hectare est de 10 à 15g (Iteipmai, 1998).

### **5- Période de récolte**

L'origan se récolte du printemps à l'automne dès qu'il est en fleurs. Il est collecté entre mi-juin et fin juillet, l'origan est collecté en début de floraison si la matière collectée est destinée à la production de feuilles séchées. Pour obtenir de l'huile essentielle, les plantes sont récoltées en pleine floraison. Il vaut mieux ne pas épuiser totalement la plante, lui laisser quelques tiges et feuilles, ainsi que quelques hampes florales qui se développent et produisent des graines (Chafai elalaoui et *al.*, 2014).

### **6- Utilisation**

L'origan est une plante qui voit différentes utilisations industrielles, en alimentation, en parfumerie, en pharmacie et en aromathérapie, les feuilles vertes ou séchées d'origan, entières ou en poudre, sont largement utilisées comme l'assaisonnement des plats cuisinés, pizza, sauces, viandes, poissons etc... L'origan est aussi utilisé comme agent conservateur de certains produits comme le beurre traditionnel (Smen), la viande sèche et les olives.

L'origan est aussi utilisé en tant que remède à plusieurs maladies en médecine traditionnelle. On l'emploie surtout, en infusions dans le traitement des dysenteries, des colites, des affections gastro-intestinales, de l'acidité gastrique et des affections broncho-pulmonaires, contre les rhumes, les gripes, les céphalées on l'administre aussi sous forme de fumigations. Il est aussi utilisé contre les affections de la bouche (aphtes et gingivites). Il est stimulant de l'appétit (Bellakhdar, 1997). La plante séchée et fumée est utilisée comme antiseptique et désinfectant. L'infusion de la poudre de la plante est un excellent remède pour la diarrhée et les troubles intestinales et est un bon digestif. L'infusion des feuilles et des inflorescences est considérée comme un tonifiant, un anti-diarrhéique et légèrement aphrodisiaque. L'huile essentielle de cette espèce est en général considérée comme un tonifiant et un bon stimulant mental et sexuel. C'est aussi un antibactérien à large spectre, antiviral et un stimulant du système immunitaire. Il est aussi un fongicide, antimycosique (Chafai elalaoui et *al.*, 2014). Cependant cette huile essentielle ne doit pas être utilisée pure, ni sur la peau, ni en interne. Il ne faut pas oublier que la marjolaine, notre origan vulgaire que l'on consomme en tisane ou dans la cuisine a été sélectionnée pendant des siècles pour ne plus être nocif, or l'origan du Maroc est un origan sauvage et doit être utilisé avec précaution. L'odeur reste toutefois très piquante, épicée et plus agressive que les autres huiles (Bellakhdar, 1997).

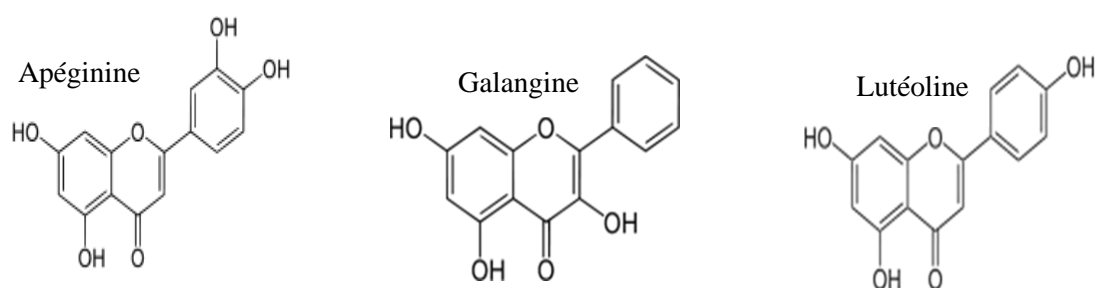
## 7- Compositions chimiques et leurs intérêts

### 7-1- Composition chimique

Quelques études ont cherché à étudier la composition chimique des extraits d'*O. compactum*, leur profil constitue des composés polyphénoliques, qui sont regroupés en trois grandes classes chimiques: acides phénoliques, tanins et flavonoïdes. L'extraction de parties aériennes d'origan séchées et en poudre a donné de la thymohydroquinone, de l'acide bétulinique, de la  $\beta$ -amyrine, de la bétuline, de l'acide oléanolique, de l'acide ursolique, de l'aromadendrine, de l'acide 21  $\alpha$ -hydroxyuléanolique et de l'acide 21  $\alpha$ -hydroxyursolique (Amakran et al., 2014).

De nouveaux composés sont régulièrement mis en évidence à partir de l'origan et de ses extraits. C'est le cas pour trois nouveaux composés polyphénoliques découverts, il y a peu: l'origanine-A, l'origanine-B et l'origanine-C (Liu et al., 2012).

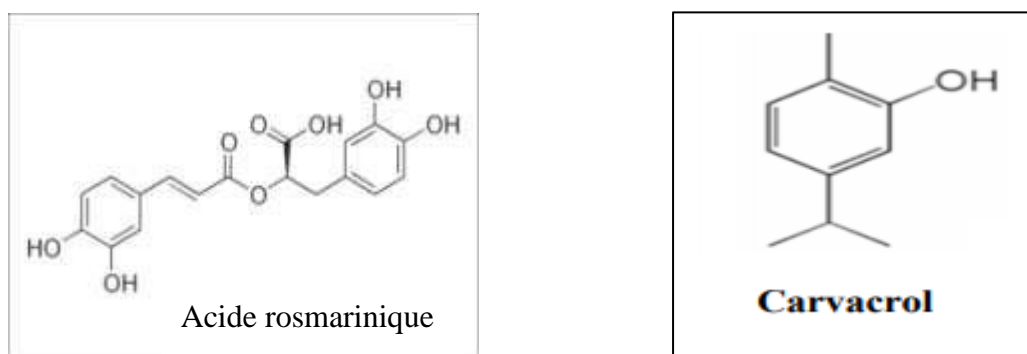
L'apigénine, la quercétine, la galangine la lutéoline, la diosmétine, l'ériodictyol, le chrysoériol, le 7-O-glucoside d'apigénine, le 7-O-glucoside-6"-méthylester de lutéoline, le 7-O-glucoside de lutéoline, ne sont que quelques-uns des flavonoïdes présents dans l'origan (Figure 1). Récemment, deux nouveaux flavonoïdes, dérivés de la lutéoline, ont par exemple été isolés de l'origan (Hawas et al., 2008; Venkateswara et al., 2011).



**Figure 1:** Structure de la lutéoline, galangine, et de l'apigénine.

L'huile essentielle d'origan contient du carvacrol (Figure 2), qui est considéré comme le composé à valeur sensorielle, aussi bien que d'importance antimicrobienne (Kintzios, 2002). Le contenu en carvacrol de la plante est évalué régulièrement au cours de la maturation, car le profil de l'huile essentielle change au fur et à mesure de celle-ci. Il a ainsi été observé que la teneur en composés phénoliques augmente pendant la période végétative. Cependant, ces composés augmentent selon un gradient allant du bas vers le haut de la plante, ce qui doit être pris en considération lors de l'évaluation du contenu (Paludosi, 1997).

En ce qui concerne l'acide rosmarinique (Figure 2), il a tendance à s'accumuler dans toutes les plantes de la famille des *lamiaceae* (Shekarchi et *al.*, 2012).



**Figure 2:** Structure de l'acide rosmarinique et de carvacrol.

### 7-2- Rôles et intérêts

Les composés de structures phénoliques, tels que le carvacrol et le thymol présentés comme les principaux composés de l'HEOC, sont très actifs contre plusieurs bactéries pathogènes. Ces composés ont été signalés comme étant des agents bactériostatiques ou bactéricides, selon la concentration utilisée (Pelczar et *al.*, 1988). En général, les HE ayant les propriétés antibactériennes les plus importantes contiennent un pourcentage élevé de composés phénoliques tels que le carvacrol et le thymol (Cosentino et *al.*, 1999; Lambert et *al.*, 2001). Leur mécanisme d'action est lié à la capacité de ces composés à perturber la membrane cellulaire, à déplacer les protons, à faire circuler les électrons, à assurer un transport actif et à coaguler le contenu cellulaire (Davidson, 1997; Sikkema et *al.*, 1995). En outre, le carvacrol déstabilise la membrane cytoplasmique et agit également comme un échangeur de protons, réduisant ainsi le gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique. L'effondrement de la force de mouvement des protons et l'épuisement du pool d'ATP qui en résulte conduisent à la mort cellulaire (Ultee et *al.*, 1999).

Le carvacrol et le thymol sont capables de désintégrer la membrane externe des bactéries Gram négatif, libérant les lipopolysaccharides et induisant l'augmentation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique à l'ATP (Lambert et *al.*, 2001).

Par ailleurs les composés phénoliques peuvent avoir un rôle de signal (Treutier, 2006), des flavonoïdes permettent par exemple la mise en place de la symbiose entre des Fabacées et des bactéries, ce qui permet à ces plantes de fixer directement l'azote atmosphérique. Ils participent aux phénomènes de pollinisation puisqu'ils sont responsables de la coloration des fleurs. Ils ont un rôle dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume et

qualité nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules) et des produits qui en dérivent par transformation, ils peuvent en effet intervenir dans: La fertilité, la pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques et encore la formation de polymères structuraux comme la lignine (Macheix et *al.*, 2005).

### **III-Composés phénoliques**

#### **1- Définition**

Les composés phénoliques (ou polyphénols) sont des molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaires des plantes, ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits. Environ 10 000 composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui (Guignard, 2000). Ils sont caractérisés par la présence d'au moins deux groupes phénoliques, associés en structures plus au moins complexe. Cette vaste famille regroupe des composés non azotés présentant des cycles aromatiques, portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, le plus souvent solubles dans l'eau.

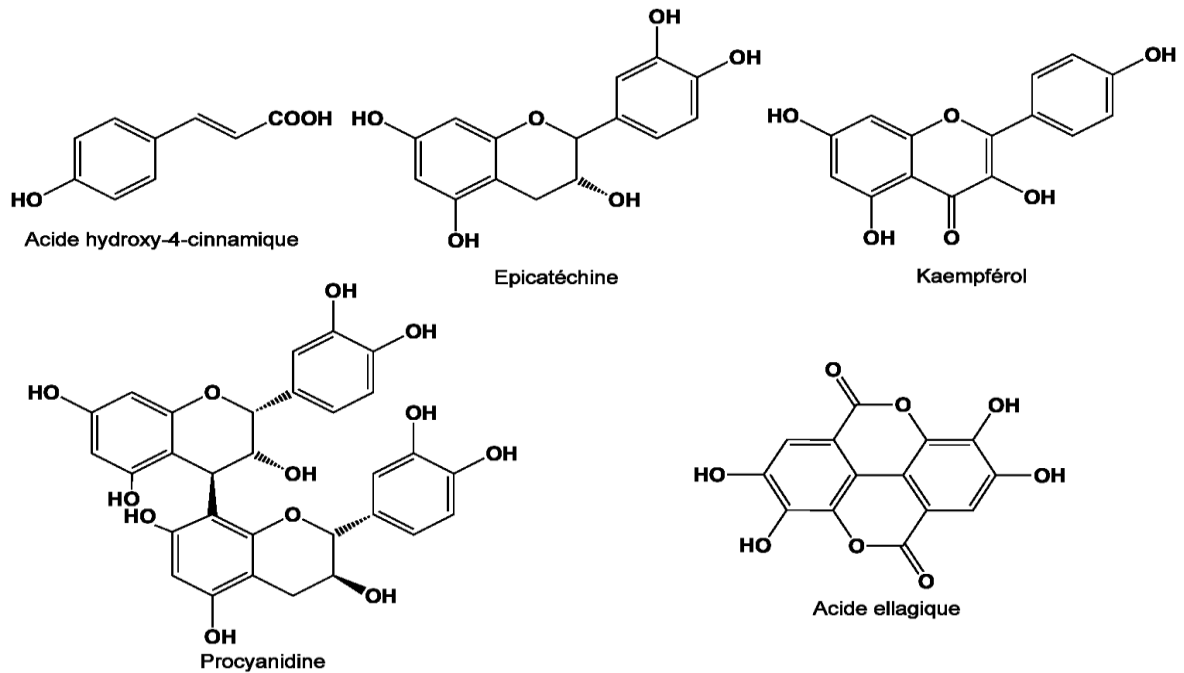
Les familles de polyphénols sont nombreuses, En se basant sur la structure carbonée de base, on les subdivise en: phénols simples, acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques et coumarines, naphthoquinones, stilbènoïdes, flavonoïdes, auxquels s'ajoutent les formes polymérisées: lignanes, lignines ou tanins condensés.

#### **2- Structure et propriété**

##### **2-1- Phénols simples et acides phénoliques**

Les phénols simples et les acides phénoliques (Figure 3) sont parmi les molécules bioactives les plus simples du métabolisme secondaire des plantes. Ces substances montrent une importante toxicité envers les microorganismes (Cowan, 1999). Les sites et le nombre des groupements OH dans les phénols seraient en relation avec cette toxicité envers les microorganismes. Cet effet antimicrobien augmente avec le nombre des groupements OH (Yamamoto et Ogawa, 2002; Taguri et *al.*, 2006; ELzaawely et *al.*, 2005). De nombreuses études *in vitro* indiquent que les composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques peuvent avoir une activité antioxydante considérable et cette activité dépend

essentiellement du nombre et de la position des hydroxyles phénoliques dans les parties du cycle aromatique (Duthie et Crozier, 2000).

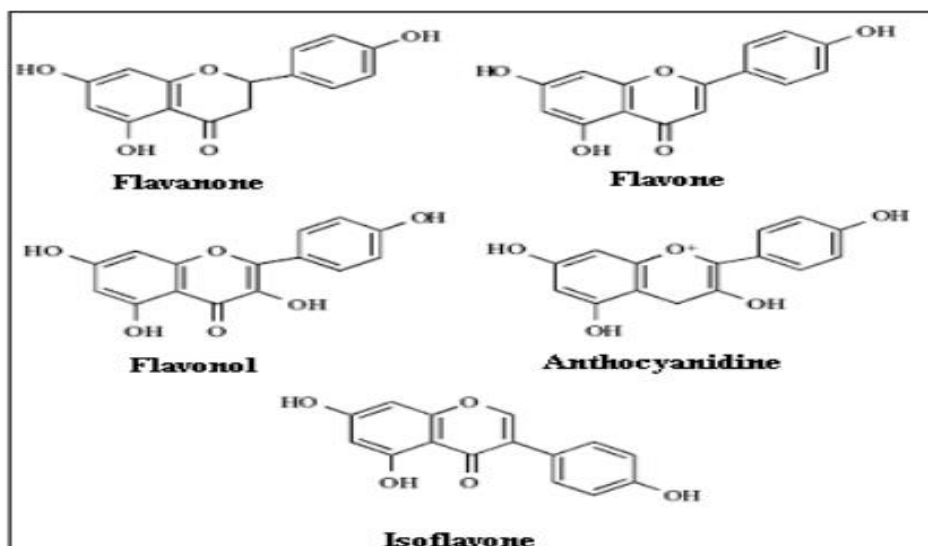


**Figure 3:** Structure de quelques phénols simples et acides phénoliques.

### 2-2- Flavonoïdes

Le terme de flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Considérés comme des pigments quasi universels des végétaux (Marfak, 2003), les flavonoïdes se trouvent dans les différentes parties des plantes à savoir: les graines, les tiges et les fleurs. Ils sont très abondants dans différents fruits et légumes, dans le thé, la propolis et le miel. Plus de 4000 types de flavonoïdes ont été isolés à partir de diverses plantes (Data et *al.*, 2004). Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les isoflavonones, les flavanones et les anthocyanidines (Figure 4). Ils sont connus pour leurs nombreuses activités biologiques comme entre autres l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-tumorale et antiallergique (Vukics et *al.*, 2008).

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique idéale qui leur confère une capacité à piéger les radicaux libres, ils sont considérés comme les antioxydants les plus efficaces *in vitro* même plus que les tocophérols et l'acide ascorbique (Blokina et *al.*, 2003).



**Figure 4:** Structure chimique de quelques flavonoïdes.

### 2-3- Tanins condensés

Les tanins condensés sont des composés non hydrolysables ayant un poids moléculaire plus élevé, issus de la polymérisation d'unités flavan-3-ols en dimères, oligomères (2-10 monomères) et polymères (>10 monomères), qui sont hydroxylés en position 3. Cette condensation leur confère une structure voisine à celle des flavonoïdes (Noumann et *al.*, 2017). Ces composés ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique. Ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides minéraux dilués mais forment à l'ébullition des composés insolubles appelés phlobaphènes ou rouge de tanins (Bessas, 2008). Plusieurs activités physiologiques humaines telles que la stimulation des cellules phagocytaires et une variété d'actions anti-infectieuses ont été attribuées aux tannins (Bruneton, 1999). Une de leurs actions moléculaires est la formation de complexes avec les protéines par des forces non spécifiques en particulier, les liaisons hydrogènes et hydrophobes (Haslam 1996).

## IV-Méthodes d'extraction

L'extraction est un procédé de séparation en génie chimique et en chimie de laboratoire qui consiste à extraire une espèce chimique, cette dernière possède plus d'affinité avec le moyen d'extraction utilisé. L'opération d'extraction se déroule en deux parties : le transfert du composé à extraire entre le mélange initial et le moyen d'extraction, et la séparation du moyen d'extraction du mélange principal.

### 1- Macération

La macération est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide pour en extraire les composés solubles, ou bien pour qu'il absorbe ce liquide afin d'en obtenir le

parfum ou la saveur, pour le conserver ou pour qu'il s'y décompose la macération peut se faire dans une solution alcoolique (macération alcoolique), de l'eau ou l'huile.

## **2- Sonication**

L'extraction par ultrasons est une méthode non thermique basée sur le principe de fonctionnement de la cavitation ultrasonique. Il s'agit de forces de cisaillement élevé et de micro turbulences qui cassent mécaniquement les parois cellulaires, facilitant simultanément la libération des constituants cellulaires de la matière végétale dans le solvant, les températures douces du processus préservent les extraits souhaités (antioxydants, polyphénols, etc.) de la dégradation thermique (Ben tahar, 2019). L'extraction par ultrasons permet de gagner du temps et de l'argent, tout en produisant des extraits de haute qualité, qui sont utilisés pour les aliments, les compléments et les produits pharmaceutiques

## **3- Hydrodistillation**

C'est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles se séparent de l'eau par différence de densité (Bouhaddouda, 2016).

## **4- Extraction par CO<sub>2</sub> super critique**

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO<sub>2</sub> et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux (Sutour, 2010). Le CO<sub>2</sub> est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Ayidia, 2011). Avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles (Martini et Seiller, 1999).

# **V- Activités biologiques**

## **1- Activité antioxydante et méthodes d'évaluation**

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants présents dans les PMA sont nombreux, et plusieurs études ont été consacrées à démontrer leur capacité antioxydante et celle de leurs HE. En effet, les PAM qui génèrent par photosynthèse leurs énergies à l'aide des UV, génèrent des molécules pour se protéger de la

photo-oxydation et s'adaptent pour éliminer efficacement les radicaux libres (Griffiths, 2016) (produisent sous l'effet de stress oxydatif).

Plusieurs études démontrent les activités antioxydants des extraits organiques d'*O.compactum*. Certaines ont montré que les extraits alcooliques de l'origan était capable d'inhiber la peroxydation lipidique, l'oxydation des LDL humains et de piéger les radicaux libres (Dorman et *al.*, 2003; Chun et *al.*, 2005), En effet, Bouhdid et *al.*, ont évalué l'activité antioxydante des huiles essentielles d'origan par trois méthodes principales: le pouvoir réducteur, le test de piégeage des radicaux libres DPPH et le test de l'acide  $\beta$ -Carotène-linoléique. Les résultats de cette étude ont mis en évidence que l'huile essentielle d'*O.compactum* possède un bon effet antioxydant avec les trois tests utilisés. Cette capacité antioxydante dépendait de la concentration de l'huile et a été attribuée aux composés phénoliques présents dans l'huile (Bouhdid et *al.*, 2008).

Les méthodes ayant servi à l'évaluation de l'activité antioxydante, suivent différentes stratégies analytiques, comme la mesure du taux de réaction, de la phase de latence, ou encore de la mesure à un point de temps fixe (Antolovich et *al.*, 2002) sont nombreux, nous citons :

#### **1-1- Test de DPPH**

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable. Il est caractérisé par une couleur violette (Chikhi, 2014). La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517 nm (Laraba et *al.*, 2016), l'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Boudjouref, 2011).

#### **1-2- Capacité Antioxydante Totale (CAT)**

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate  $\text{MoO}_4^{2-}$  en molybdène Mo (V)  $\text{MoO}_2^+$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (Prieto et *al.*, 1999)

#### **1-3- $\beta$ -carotène**

Ce test consiste à mesurer la décroissance de l'absorption à 470 nm due à la  $\beta$ -carotène sous un flux de radicaux libres générés par l'oxydation spontanée de l'acide linoléique à la température de l'essai (50 °C), en présence ou en l'absence d'antioxydants (Amorati Valgimigl, 2015), dont la présence peut réduire la perte et par conséquent la décoloration du  $\beta$ -carotène



pendant son oxydation couplée à celle de l'acide linoléique dans le système aqueux émulsionné (Shahidi et Zhong, 2015).

#### **1-4- Test de FRAP**

Cette méthode est basée sur la réduction des ions du complexe ferrique, du  $Fe^{3+}$  tripyridyltriazine Fe (TPTZ)<sup>3+</sup> au  $Fe$  (TPTZ)<sup>2+</sup> bleu foncé dans un milieu acide après l'ajout de l'antioxydant, le changement de couleur est mesuré par spectrophotométrie à 59 nm (Benzie et Strain, 1996).

### **2- Activité antimicrobienne**

Les plantes ont la capacité de synthétiser un nombre illimité de métabolites secondaires aromatiques capable d'assurer leur protection contre les bactéries et les champignons, dont la plupart sont des phénols ou leurs dérivés oxygénés.

#### **2-1- Activité antibactérienne**

Les propriétés antibactériennes des huiles essentielles et des extraits d'*O.compactum* contre les bactéries pathogènes ont été rapportées dans de nombreuses études et les résultats obtenus sont prometteurs (Bellakhdar et al., 1988).

L'huile essentielle d'*O. compactum* a été testée contre six bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* sérovar 4b, *Listeria innocua* et *Enterococcus faecium*) et 4 bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* K12, *Escherichia coli* sérovar O157:H7, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus subtilis*), et a inhibé la croissance de toutes les bactéries testées. (Bouhdid et al., 2008). Cette activité peut être associée à la présence de carvacrol et de thymol, qui est le composant principal de l'huile. Le mécanisme d'action est lié à la capacité de cette l'huile à induire une fuite de  $K^+$  intracellulaire des cellules, à induire des altérations de la membrane bactérienne. Ces altérations ont conduit à la perte de perméabilité sélective de la membrane et donc à l'inhibition de l'activité respiratoire, et aussi à la perte d'autres activités enzymatiques essentielles, tous ces changements ont conduit à la mort cellulaire (Bouhdid et al., 2009).

#### **2-2- Activité antifongique**

L'un des produits naturels utilisés comme agent thérapeutique contre les champignons est l'origan, c'est-à-dire ses huiles essentielles et ses extraits. Une activité considérable des extraits d'origan à l'éther de pétrole, à l'hexane, au chloroforme et au méthanol a été estimée par fadel et al. Contre *Penicillium digitatum* (Fadel et al., 2013).

Les extraits d'éther de pétrole d'*O. compactum* étaient très actifs contre la croissance mycélienne de *P. digitatum*, l'efficacité de cet extrait pourrait être due à ses niveaux élevés de carvacrol, p-cymène, thymol et terpinène. Les extraits méthanoliques à 80% des parties aériennes d'*O. compactum* étaient également très efficaces contre la croissance mycélienne de *P. digitatum*. Il a été démontré que le mécanisme de toxicité des phénols totaux contre les champignons est basé sur l'inactivation des enzymes fongiques qui contiennent le groupe SH dans leurs sites actifs. Les composés purs ont été classés selon leur activité antifongique envers sept champignons, cette activité diminue selon le type de fonctions chimiques de composé: phénols> alcools> aldéhydes> acétones> éthers>hydrocarbure (Chebli et al., 2003).

### **3- Autres activités**

#### **3-1- Cytotoxicité**

Certaines études ont évalué la cytotoxicité des extraits d'origan sur des lignées cellulaires humaines. (El Babili et al., 2011) ont montré une activité contre des cellules humaines. Une autre étude menée par (Chaouki et al., 2010) a montré que l'extrait d'acétate d'éthyle d'*O.compactum* avait un effet cytotoxique sur les cellules MCF-7 de tumeurs mammaires humaines. En outre, le même extrait a eu un effet cytotoxique sur les lignées cellulaires humaines A549 de cancer du poumon et SMMC-7721 d'hépatome par un ( $IC_{50} = 198 \pm 12 \mu\text{g/ml}$ ) et ( $IC_{50} = 266 \pm 14 \mu\text{g/ml}$ ).

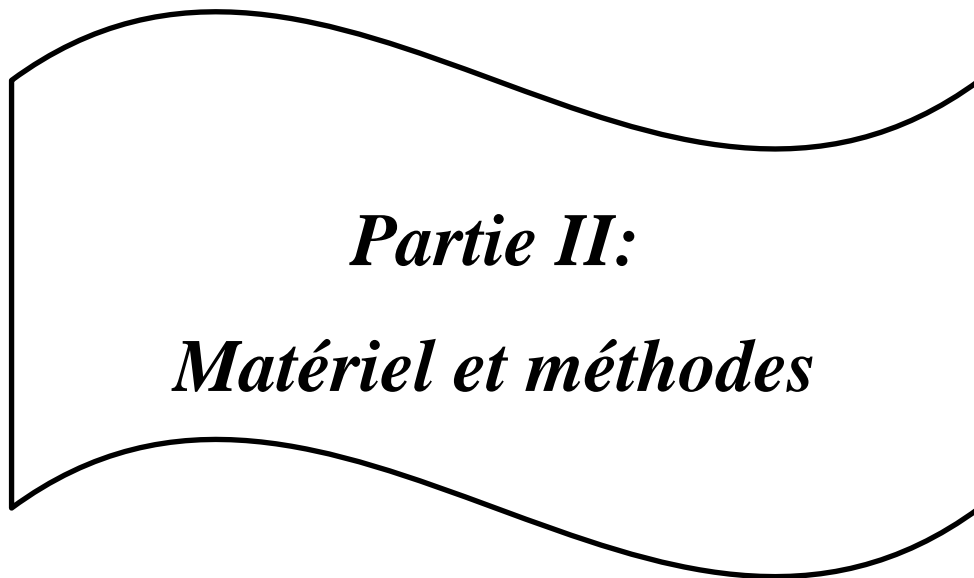
#### **3-2- Activité anti-mutagène**

Le carvacrol, le principal composant de l'huile essentielle d'origan a montré une activité antimutagène (Mezzoug et al., 2007), qui semble être principalement liée à l'induction d'un dysfonctionnement mitochondrial (Bakkali et al., 2006).

#### **3-3- Activité insecticide**

L'HE d'origan possède des propriétés insecticides importantes contre les insectes *dominica Rhizopertha* qui attaquent les céréales entre posées (Khalfi et al., 2008), elle pourrait constituer une alternative aux insecticides de synthèse. (Kordali et al., 2008), ont montré que l'HE d'origan a entraîné la mortalité de 68.3% de *Sitophilus granarius* et 36,7% des adultes *Confusum tribolium*. Cet effet insecticide est attribué au carvacrol, composant majeur de l'HE d'origan.

Plus récemment, l'huile essentielle d'origan a montré une forte activité insecticide contre les larves de *Spodoptera littoralis* avec une  $DL \leq 0,05 \text{ ml/larve}$  (Pavela, 2005).



***Partie II:***  
***Matériel et méthodes***

## I- Matériel végétal

L'espèce végétale utilisée dans cette pratique est *Origanum compactum* qui appartient à la famille des lamiacées. La partie aérienne de la plante a été récoltée pendant le mois février 2020 dans la région de **Ghafsai – Taounate Maroc**. Cette partie a été séchée dans l'étuve à une température de 30°C pendant 72 heures pour éliminer l'eau, puis broyée en une poudre fine en utilisant un broyeur électrique (Figure 5). La poudre est ainsi tamisée par un tamis de diamètre 250 µm, puis conservé à une température de -28 °C.



**Figure 5:** Transformation de la partie aérienne sèche en poudre

## II- Préparation des extraits

La poudre obtenue est soumise à l'extraction par deux méthodes différentes (sonication et macération). L'objectif de cette extraction est de faire sortir les composés et les principes actifs présents dans les particules de la poudre. Cinq solvants ont été préparés (Tableau 1).

**Tableau 1:** Proportion des solvants utilisés.

	Proportion	Extrait
1	100%eau	Extrait aqueux (EA)
2	100%éthanol	Extrait éthanolique (EE)
3	100%méthanol	Extrait méthanolique (EM)
4	50%eau-50%éthanol	Extrait hydro-éthanolique (EHE)
5	50%eau-50% méthanol	Extrait hydro-méthanolique (EHM)

### 1- Extraction par sonication

L'extraction par sonication consiste à mélanger 40 mg de la poudre avec 10 ml de solvant des différents proportions (EE, EM, EA, EHE, EHM), trois répétition ont été effectuée pour chaque proportion. Le mélange est ainsi placé dans le sonicateur (température ambiante, 35 KHz)

pendant 45 min. La récupération des extraits a été effectuée après élimination du culot à l'aide d'une centrifugation (3000 rpm /10 min), et en suite conservés à 4°C.

## **2- Extraction par macération**

Cette technique consiste à mélanger 80mg de la poudre végétale avec 20 ml de solvant des différents proportions (EE, EM, EA, EHE, EHM), sous agitation douce pendant 6 heures à température ambiante. Les extraits sont récupérés après élimination du culot à l'aide d'une centrifugation, puis conservés à 4°C.

## **3- Rendement des extraits**

Le rendement de l'extraction est calculé selon la formule ci-dessous. Il est exprimé en fonction de la matière sèche (% MS).

$$R\% = \frac{Es}{Ms} \times 100$$

Où:

R: Le rendement en %;

Es: La masse de l'extrait sec;

Ms: La masse de la matière végétale sèche.

# **III-Analyse phytochimique**

## **1- Dosage des polyphénols totaux**

- **Principe**

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits organiques a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode du réactif de Folin–Cicalteu. Ce dosage a été décrit dès 1965 (Singleton et Rossi, 1965). Il est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le réactif de Folin–Cicalteu est une solution de coloration jaune contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro polyacides), il est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ).

En milieu alcalin, ce réactif oxyde l'ensemble des substances phénoliques en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéros polyacides (Daels, 1999) en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (Ribéreau, 1968).

La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750-760 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques oxydés.

- **Mode opératoire**

La teneur en polyphénols totaux des extraits de l'*Origanum compactum* a été déterminée en utilisant le protocole basé sur le principe de réactif de Folin-Ciocalteu. Brièvement, un volume de 100 µl de chaque extrait a été mélangé, avec 500µl de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans de l'eau distillée, après une heure d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante ( $23 \pm 2$  °C), 2 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 %) ont été ajoutés. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est ainsi mesurée à 750 nm en utilisant un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique (1mg/ml).

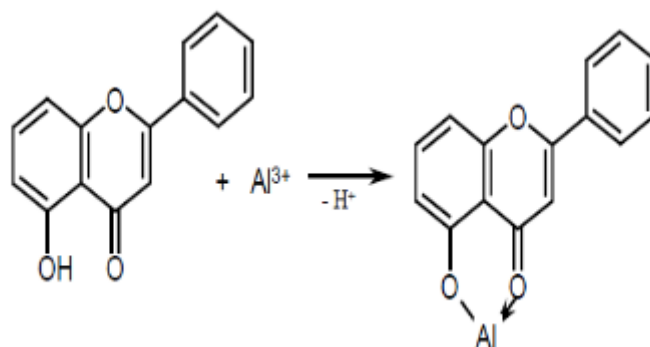
La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à cette courbe d'étalonnage, les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS).

## **2- Dosage des flavonoïdes**

- **Principe**

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits de l'origan a été effectué en utilisant la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium qui repose sur la capacité de ces composés à former des complexes chromogènes avec ce réactif. Généralement ce dosage est fondé sur la quantification du contenu total en flavonoïdes présents dans l'extrait.

Le chlorure d'aluminium forme des complexes acides stables avec le groupe cétonique C-4 et avec le groupe d'hydroxyle de carbone C-3 ou C-5 de flavones et de flavonols (Figure 6). En outre, le chlorure d'aluminium forme des complexes acides labiles avec les groupes orthodihydroxyl dans le cycle A ou B de flavonoïdes (Chang et al., 2002).



**Figure 6:** Principe de réaction entre les flavonoïdes et  $\text{AlCl}_3$

- **Mode opératoire**

Le contenu total en flavonoïdes a été déterminé en utilisant le protocole décrite par (Barros et *al.*, 2011). En bref, 1ml de l'extrait végétal a été mélangé avec 0.3ml de  $\text{NaNO}_2$  (5%), après 5 min d'obscurité, 0.3ml d' $\text{AlCl}_3$  (10%) sont ajoutés et laissés pendant 6 minutes, puis 2 ml de  $\text{NaOH}$  (1 M) sont ajoutés. Le volume total est ajusté à 10 mL avec de l'eau distillée.

L'absorbance est mesurée après à 510 nm, les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la solution standard de quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de la matière sèche (mg EQ/g MS).

### 3- Dosage des tanins condensés

- **Mode opératoire**

Le dosage des tanins condensés a été effectué comme suit: Dans des tubes en verre, 1 ml de l'extrait dilué 2 fois est ajouté avec 1,5 ml de HCL 37%, plus 0,5 ml de l'eau distillé. Deux essais ont été réalisés, une à température ambiante et l'autre dans le bain mari à  $95^\circ\text{C}$  pendant 30 min. L'absorbance est ainsi mesurée après refroidissement à 550 nm

La concentration en tanins condensés est déduite à partir de la relation suivante:

La concentration en tanins condensés =  $19,33 * (D_{\text{BM}} - D_{\text{Ta}})$

Où:

$D_{\text{BM}}$  : Absorbance de l'essai à  $95^\circ\text{C}$ ;

$D_{\text{Ta}}$  : Absorbance de l'essai à température ambiante.

## IV-Evaluation de l'activité antioxydante de l'*Origanum compactum*

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de l'*Origanum compactum*, nous avons utilisé deux techniques :

### 1- Capacité Antioxydante Totale (CAT)

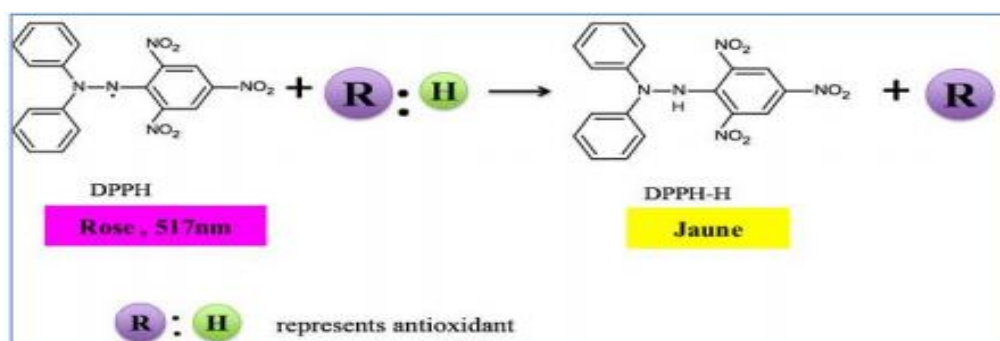
La capacité antioxydante totale (CAT) est une méthode spectroscopique pour la détermination quantitative de l'activité antioxydante, par la formation d'un complexe de phosphomolybdène en présence de l'extrait et à pH acide. La capacité antioxydante totale peut être calculée par la méthode décrite par (Prieto et al., 1999).

- **Mode opératoire:**

Cette méthode consiste à introduire, un volume de 100 µl de chaque extrait avec 3 ml de solution phosphomolybdate (0,6 M acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Le mélange est ainsi incubé à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 100 µl du méthanol. La capacité antioxydant totale de différents échantillons est déterminée en réalisant une gamme d'étalonnage qui a été préparée à partir d'une série de dilution d'acide ascorbique de concentration initiale égale à 2 mg/ml. Les résultats obtenus sont exprimées en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS).

### 2- Test de DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Origanum compactum* peut être effectuée par le test de DPPH, le principe de cet essai est basé sur la réduction de ce dernière en présence de l'extrait, après sa réduction grâce à un hydrogène provenant d'un antioxydant contenu dans l'extrait, ce radicale devient jaune pâle (Figure 7).



**Figure 7:** Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH<sup>•</sup> et un antioxydant (RH).



- **Mode opératoire**

La capacité des extraits de la plante *Origanum compactum* à piéger les radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) a été évaluée en utilisant la méthode décrite par (Hatano et al.,1988):

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 4 mg de ce composé dans 100 ml de méthanol, laissé sous agitation à l'obscurité et à température ambiante pendant 3 heures.

Une prise d'essai de 100µl de chaque extrait est mise en présence de 1 ml de solution de DPPH fraîchement préparée à l'obscurité. De plus, des dilutions ont été effectuées pour obtenir des concentrations de 100 mg/ml à 12,5 mg/ml. Le mélange est laissé 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante.

L'absorbance traduisant la capacité de réduction du radical DPPH est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Les résultats sont comparables avec le BHT utilisé comme molécule de référence.

L'activité anti-radicalaire est déterminée en pourcentage grâce à la formule suivante :

$$\text{Activité antioxydante (\%)} = \frac{\text{Abs de témoin} - \text{Abs d'essai}}{\text{Abs de témoin}} \times 100$$

La variation graduelle de cette activité a permis de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC<sub>50</sub>: la concentration de l'échantillon testé et de BHT nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.). Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydante (en %) en fonction de différentes concentrations de l'extrait et de BHT. Une faible valeur d'IC<sub>50</sub> indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH (Bernaoui et Louetri, 2018).

## VI- Evaluation de l'activité antibactérienne de *Origanum compactum* par la méthode de micro dilution

### 1- Les souches bactériennes utilisées

Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos échantillons, nous avons utilisé quatre souches bactériennes Gram négatives et positive ont été fournies par le laboratoire de ANPMA:

**Tableau 2:** Souches utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne.

	Souches bactériennes	Familles
Bactéries à Gram Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcaceae
	<i>Bacillus subtilis</i>	Bacillaceae
Bactéries à Gram Négatif	<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pseudomonadaceae

### 2- Préparation de l'extrait

Nous avons choisi l'extrait hydro-éthanolique pour tester l'activité antimicrobienne de la plante *Origanum compactum*, car c'est l'extrait le plus riche en composés phénoliques et enregistre l'activité antioxydante la plus élevée. Nous avons procédé d'abord à son solubilisation dans du sulfoxyde de diméthyle DMSO (200 mg/ml).

### 3- Préparation des milieux de culture

Milieu Lauria Bertani (LB) solide, préparé comme suit : 10g de peptone, 5 g de l'extrait de levure, 20g d'agar et 10g de NaCl Dissoudre dans 1L d'eau distillée. Faire agiter jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

### 4- Réactivation des souches bactériennes

La réactivation des souches bactériennes a été faite par ensemencement sur le milieu solide, puis incubation à 37°C pendant 24h.

### 5- Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes et fraîches sur gélose nutritive, on racle des colonies bien isolées parfaitement identiques à l'aide d'une anse stérile, puis déposé dans 10 ml d'eau physiologique stérile (0,9 % NaCl), on agite au vortex pendant quelques secondes jusqu'à

l'homogénéisation. La standardisation de la suspension à  $10^8$  UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 600 nm. Selon Mac Farland, on admet qu'une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de  $10^8$  UFC/ml (Hadji, 2012).

### 6- Méthode de micro dilution sur milieu liquide

L'activité antibactérienne des extraits hydro-éthanolique de l'*Origanum compactum* a été évaluée par la méthode de micro-dilution. Dans cette technique, des microplaques stériles à 96 puits (Figure 8) sont utilisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice.



Figure 8: microplaque stérile à 96 puits.

#### 6-1- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI a été réalisée en microplaque 96 puits en utilisant un dosage de micro-dilution (Carlson et *al.*, 1995). Au début, dans une microplaque 96puits, à partir d'une solution mère de l'extrait hydro-éthanolique, une série de dilution de facteur  $\frac{1}{2}$  entre chaque puits est préparée dans le milieu LB liquide, afin de se produire un volume final de  $50\mu\text{L}$  pour chaque concentration, ensuite,  $50\mu\text{L}$  de l'inoculum bactérien de concentration finale de  $10^8$  UFC/ ml sont ajoutés aux différentes concentrations de la série de dilution. Après incubation à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 h, la lecture s'effectue en utilisant un indicateur coloré diluée dans de l'eau distillée stérile,  $5\mu\text{L}$  de résazurine est ajoutés à chaque puits comme indicateur de la croissance bactérienne. Après une incubation à  $37^\circ\text{C}$  pendant 1h, la croissance bactérienne a été révélée par le changement de coloration du bleu au rose. La valeur de la CMI est déterminée comme étant la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance ne s'est produite dans le puits et qui empêche un changement de couleur de la résazurine (Ouedrhiri, 2017). Chaque ligne est réservée pour une souche déterminée.

## **6-2- Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) en milieu solide**

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en extrait capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum microbien initial (soit moins de 0,1% de survivants) (Carlson et al.1995). Elle correspond à la plus faible concentration produisant des sous-cultures négatives après incubation à 37 ° C pendant 24 heures (Ouedrhiri, 2017). Elle définit l'effet bactéricide de l'extrait analysé.

Cinq microlitres de la suspension bactérienne sont repiqués à partir des puits montrant une absence complète de la croissance bactérienne (des puits négatifs) puis déposés « en puits » sur gélose nutritive, les boîtes ensemencées sont incubées pendant 24 heures à 37°C. La CMB est déduite à partir de première puits dépourvue de bactéries.

Le rapport CMB/CMI a également été calculé pour mettre en évidence la nature de l'effet antibactérien de l'extrait testé. Lorsque le rapport est inférieur à 4, l'extrait présente un effet bactéricide, si le ratio est supérieur à 4, le caractère est bactériostatique (Levison, 2004).

### **I- Analyse statistique**

Les données obtenues ont fait l'objet d'une analyse statistique (calcul des moyens, analyse de la variance, écart type) pour rechercher la variabilité existante entre les extraits utilisés. Les données ont été traités à l'aide du logiciel « SYS-TAT 12 ». Un test de comparaison des moyennes a été fait chaque fois qu'il y avait un effet significatif de facteur étudié par l'ANOVA.



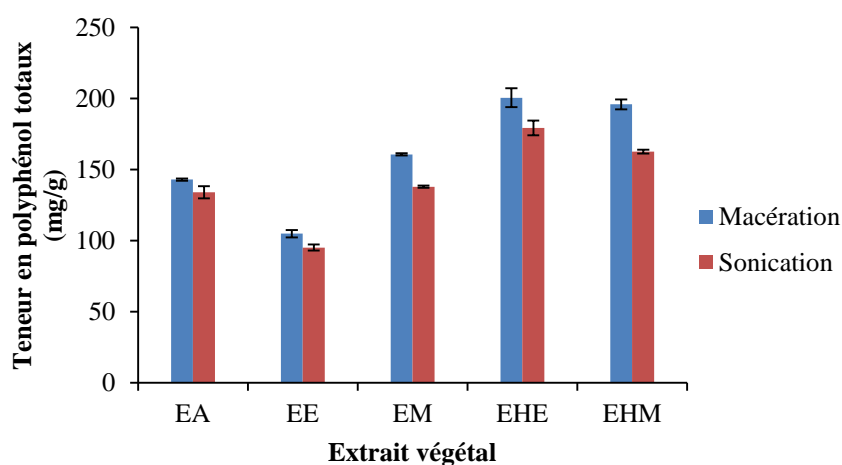
***Partie III :***  
***Résultats et discussion***

## I- Dosage des composés phénoliques

### 1- Teneur en polyphénols totaux

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux sont donnés par la figure 9, exprimé par mg EAG/g MS. La concentration en polyphénols totaux dans les extraits examinés s'est étendue de 95,139 à 200,559 mg EAG/g MS. Les résultats montrent que les teneurs des différents extraits étudiés (EA, EE, EM, EHE, EHM) obtenues par la méthode de macération sont beaucoup plus importantes que celles obtenues par sonication. La concentration la plus élevée des phénols a été enregistrée dans l'extrait hydro-éthanolique avec une valeur de 200,559 mg/g pour la macération et 179,236 mg/g pour la technique de sonication. Par contre la teneur la plus faible a été enregistrée par l'extrait éthanolique avec une concentration de 104,861 mg/g pour la macération et 95,139 mg/g pour la sonication.

L'analyse de la variance relative à la teneur en polyphenols montre une différence hautement significative entre les différents extraits et les deux méthodes d'extractions ( $p < 0.001$ ).

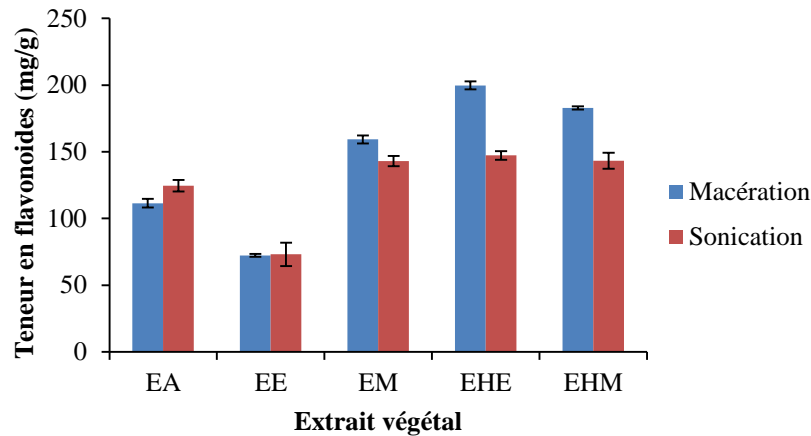


**Figure 9:** Teneur en polyphénols des différents extraits étudiés d'*Origanum compactum* par macération et sonication.

### 2- Teneur en flavonoïdes

Les résultats obtenus de la teneur en flavonoïdes en fonction de la nature d'extrait, sont présentés dans la figure 10. Ainsi la concentration des flavonoïdes dans les extraits d'*Origanum compactum* est échelonnée de 72,333 à 199,750 mg EQ/g MS. L'analyse des résultats nous a permis de souligner que l'extraction par macération donne des teneurs en flavonoïdes plus important par rapport à la technique de sonication, dans les différents extraits examinés. Les résultats montrent que l'extrait hydro-éthanolique est le meilleur extrait riche en flavonoïdes avec des concentrations ayant de 199,750 et 147,250 mg EQ/g MS

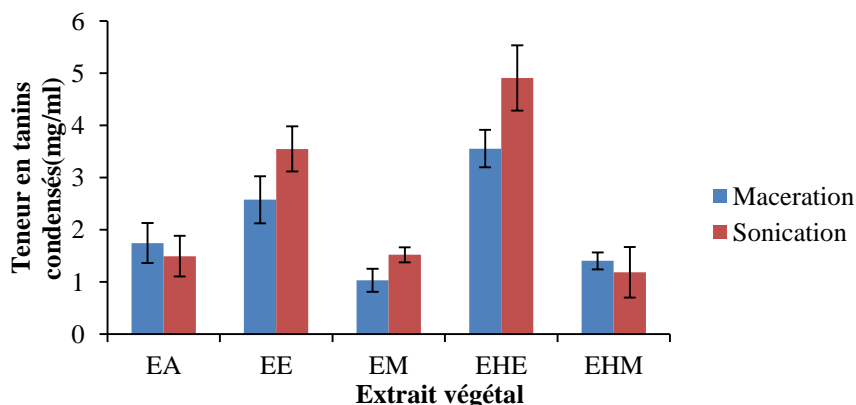
respectivement pour les deux méthodes (Macération, sonication). Alors que la faible valeur a été enregistrée dans l'extrait éthanolique avec des concentrations ayant de 72,333 (Macération) et 73,083 (Sonication) mg EQ/g MS. Statistiquement une différence hautement significative a été observée entre les différents extraits étudiés et les deux méthodes d'extractions utilisés ( $p < 0.001$ ).



**Figure 10:** Teneur en flavonoïdes des extraits étudiés d'*Origanum compactum* par macération et sonication.

### 3- Teneur en tanins condensés

D'après les résultats illustrés dans la figure 11, nous avons remarqué que la teneur la plus élevée en tanins condensés a été enregistrée par l'extrait hydro-éthanolique par sonication et macération avec 4,910 et 3,557(mg/ml) respectivement. Alors que la faible valeur (1,031 et 1,186 mg/ml) a été enregistrée par l'EM par macération et l'EHM par sonication respectivement. D'après l'ANOVA, une différence hautement significative a été marquée entre les deux méthodes d'extractions utilisées ( $p < 0,001$ ), par contre une différence significative a été observée chez les extraits ( $p < 0,05$ ).



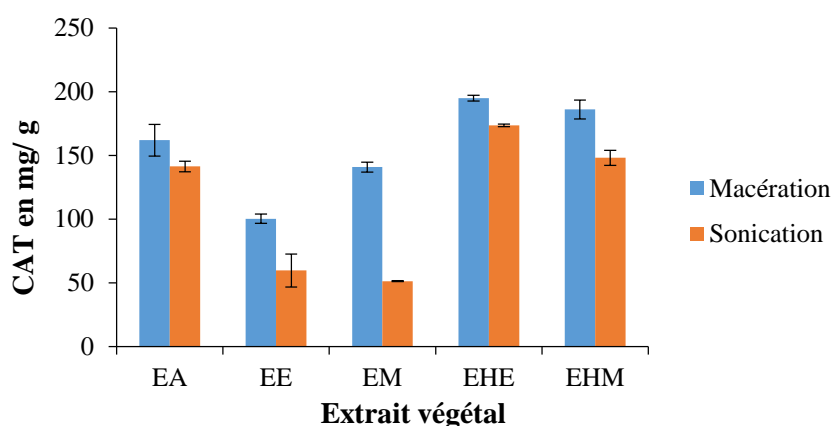
**Figure 11:** Teneur en tanins condensés des différents extraits d'*Origanum compactum*.

## II- Evaluation du pouvoir antioxydant

### 1- Capacité Antioxydante Totale (CAT)

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits d'*Origanum compactum* évaluée par la capacité antioxydante totale sont illustrés dans la figure 12. Les valeurs obtenues sont exprimés en termes de mg équivalent d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche.

D'après ces résultats, l'évaluation de la capacité antioxydante totale des extraits a montré une variabilité relative aux solvants et la méthode d'extraction utilisés. Ainsi nous avons constaté que les extraits par macération, présentent les teneurs les plus élevées par rapport aux extraits par sonication. Nous avons remarqué aussi que l'EHE présente une forte capacité antioxydante, avec 194,979 et 173,634 mg/g respectivement pour la macération et sonication. Par contre l'EE et l'EM présentent les concentrations les plus faibles (100,310 et 51,316 mg/g) pour la macération et la sonication respectivement. L'analyse statistique relative à la capacité antioxydante totale montre une différence hautement significative entre les deux méthodes d'extractions et les différents extraits étudiés ( $p < 0,001$ ).

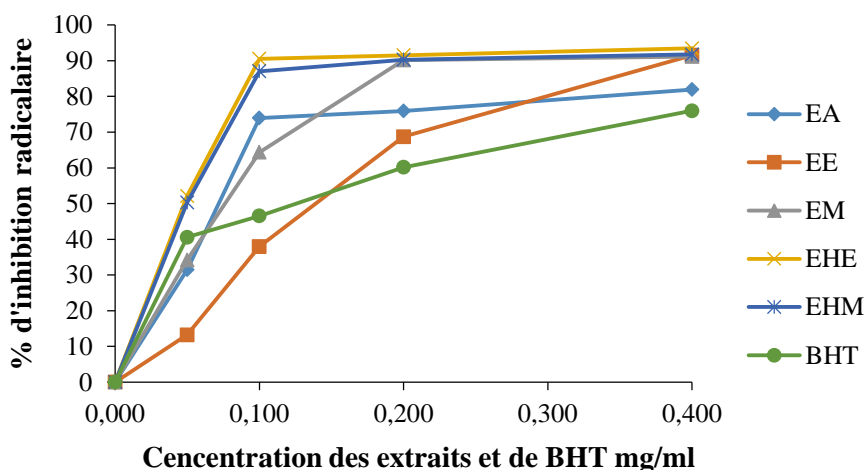


**Figure 12:** Capacité antioxydante totale des différents extraits d'*Origanum compactum* par macération et sonication.

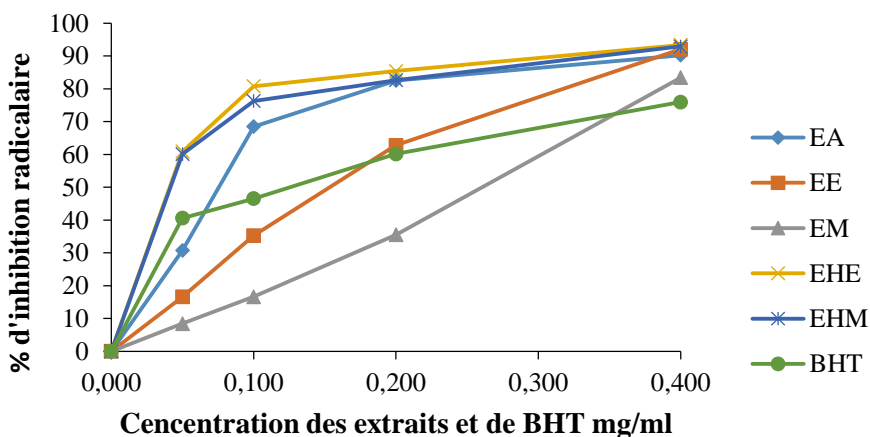
### 2- Test de DPPH

D'après les résultats représentés dans les figures 13 et 14, nous avons constaté que tous les extraits obtenus soit par macération ou sonication se sont montrés capables de réduire le radical DPPH. En effet, la valeur maximale de pourcentage d'inhibition a été observée chez l'EHE que ça soit pour la macération (93,459%) que pour la sonication (93,341%). Par contre le pourcentage d'inhibition le plus faible a été observée chez l'EE par macération (13,239%) et l'EM par sonication (8,461%). D'après l'ANOVA, pas de significatif entre les différents extraits examinés et les deux méthodes d'extractions utilisés ( $p > 0.05$ ).





**Figure 13:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits par macération et le BHT.



**Figure 14:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits par sonication et le BHT.

La variation graduelle du pourcentage d'inhibition du radical DPPH nous a permis de déterminer l'IC<sub>50</sub>, qui correspond à la concentration d'extrait ou du BHT nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu réactionnel. Le tableau 3 rassemble les IC<sub>50</sub> obtenues pour les extraits étudiés, ainsi que celle du BHT. Notons que plus l'IC<sub>50</sub> est faible plus l'activité antioxydante du composé est importante. Les EHE ont enregistré les IC<sub>50</sub> les plus faibles pour les deux techniques d'extractions (IC<sub>50</sub> = 0.064 et 0.069 mg/ml), ce qui traduit leurs forts effets antioxydants qui dépasse celui de BHT (IC<sub>50</sub> = 0.46 mg/ml). Par

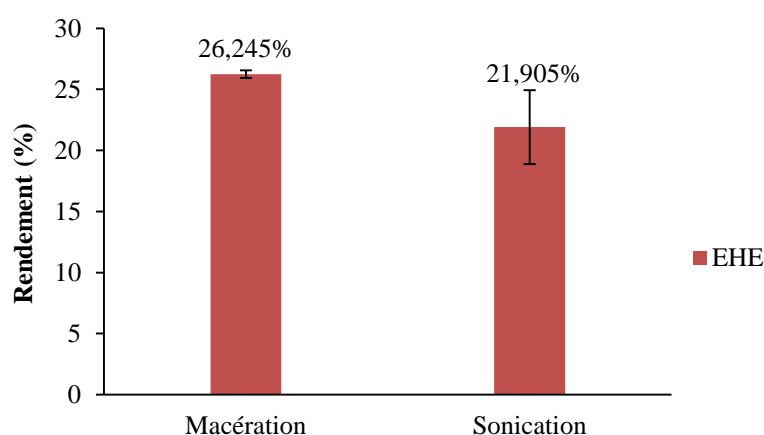
contre, l'activité antiradicalaire la plus faible a été exprimée par l'EE par macération ( $IC_{50} = 0.183 \text{ mg/ml}$ ) et l'EM par sonication ( $IC_{50} = 0.252 \text{ mg/ml}$ ).

**Tableau 3:** Valeurs d' $IC_{50}$  des extraits testés et de BHT

Extrait	$IC_{50}$	
	Macération	Sonication
EA	$0.135 \pm 0.008$	$0.128 \pm 0.010$
EE	$0.183 \pm 0.005$	$0.188 \pm 0.005$
EM	$0.121 \pm 0.003$	$0.252 \pm 0.011$
EHE	$0.064 \pm 0.007$	$0.069 \pm 0.009$
EHM	$0.073 \pm 0.005$	$0.078 \pm 0.014$
BHT	$0.461 \pm 0.005$	

### III-Rendement des extraits

Les résultats obtenus, montrent que le rendement des extraits hydro-éthanoliques de la plante *Origanum compactum* varie en fonction de la méthode d'extraction utilisé (Figure 16). En effet, nous avons remarqué que le rendement par macération est très important (26,245%) par rapport à la sonication (21,905%). D'après l'ANOVA, une différence significatif a été observé entre les deux méthodes d'extractions utilisés ( $p < 0,01$ ).



**Figure 16 :** Rendement de l'EHE de la plante *Origanum compactum* par macération et sonication.

## IV-Evaluation du pouvoir antibactérien

### 1- Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Les résultats de l'activité antibactérienne de la plante *Origanum compactum* évalué par la méthode de micro-dilution sont reportés dans les tableaux 4 et 5, ainsi nous avons pu montrer que l'extrait testé a une activité d'inhibition significative contre la croissance des différentes bactéries utilisés, avec un degré différent lié au type de la souche et la méthode d'extraction, ce qui confirme le spectre large de l'activité antibactérienne de cette plante. Cette activité a été exprimée par la concentration minimale inhibitrice (CMI). En effet, *P.auruginosa* a montré sa résistance vis-à-vis à l'extrait étudiées par rapport aux autres souches testés, avec des CMI de 6.25 et 3.125 mg/ml par la sonication et macération respectivement. Par contre *E.coli*, *B.subtilis* et *S.aureus* ont montré une haute sensibilité, avec une CMI de 0.7 mg/ml.

**Tableau 4:** Résultats de l'activité antibactérienne de l'EHE par sonication et macération sur les différentes souches étudiées.

[mg/ml] / Souche		200	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,7	0,39	0,19	0,09
<b>E.c</b>	Sonication	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	Macération	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<b>S.a</b>	Sonication	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	Macération	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<b>B.s</b>	Sonication	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	Macération	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<b>P.a</b>	Sonication	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	Macération	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

+ Croissance bactérienne ; - Pas de croissance

**Tableau 5:** Valeurs de la concentration minimale inhibitrice

Souche bactérienne	CMI (mg/ml)	
	Sonication	Macération
<i>E.c</i>	0,7	1,56
<i>S.a</i>	0,7	0,7
<i>B.s</i>	1,56	0,7
<i>P.a</i>	6,25	3,125

## 2- Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

Dans le tableau 6 nous avons présenté les résultats du rapport CMB/CMI qui traduit la capacité bactéricide ou bactériostatique de l'extrait. Dans cette étude, les rapports CMB/CMI de l'extrait obtenu par sonication sont compris entre 1 et 2 pour toutes les souches bactériennes étudiées. Ce qui traduit leur action bactéricide contre ces souches. Alors que l'extrait par macération exerce un effet bactéricide vis-à-vis à *E.coli* et *P.auruginosa* (CMB/CMI a été inférieure à 4), et un effet bactériostatique contre *S.aureus*, *B.subtilis*, vu que le rapport CMB/CMI a été supérieur à 4.

**Tableau 6 :** Effet bactéricide ou bactériostatique de l'*Origanum compactum*.

Méthode Souche	Sonication				Macération			
	CMB	CMI	CMB/CMI	Caractère	CMB	CMI	CMB/CMI	Caractère
<i>E.c</i>	0,7	0,7	1	Bactéricide	3,125	1,56	2	Bactéricide
<i>S.a</i>	1,56	0,7	2,23	Bactéricide	12,5	0,7	17,86	Bactériostatique
<i>B.s</i>	1,56	1,56	1	Bactéricide	12,5	0,7	17,86	Bactériostatique
<i>P.a</i>	6,25	6,25	1	Bactéricide	12,5	3,125	4	Bactéricide

## *Discussion*

L'extraction par les solvants organiques est souvent la méthode la plus utilisée pour la préparation des extraits des plantes (Kaabour, 2009). Dans la présente étude, l'extrait hydro-éthanolique obtenu par macération a révélé le rendement le plus élevé (26,24%), ce résultat est nettement supérieur à celui reporté par (Kaabour, 2009), qui a démontré une valeur de 21,8% dans l'extrait aqueux de l'*Origanum glandulosum*. Cependant quelques études ont montré un rendement plus important que notre résultats. (Bouyahya et al., 2017 ; Zeroual et al., 2020), ont révélés une valeur de 34,42 et 31,70% dans l'extrait méthanolique de l'*Origanum compactum* de la région zoumi (situé à 34 km de la province d'Ouezzane) et la région bouadel (situé à 25 km de la province de Taounate) respectivement. Des études mené par (Hayani et al., 2020) ont aussi montrés des rendement important (35,2%) par l'extrait hydro-méthanolique. Ces variations peuvent être attribuées à différents facteurs environnementaux, prenant en compte la variabilité des composants chimiques, la zone géographique dans lequel pousse la plante, le temps, la température, le solvant et la méthode d'extraction.

Les résultats de la concentration en flavonoïdes et en polyphénols totaux dans les extraits de l'*O. compactum* ont montré que les teneurs les plus élevés sont enregistrés dans l'extrait hydro-éthanolique par macération (199,750 mg EQ/g MS et 200,559 mg EAG/g MS), ce qui indique que ces métabolites sont extraits aussi bien par macération que par sonication. Ce résultats sont beaucoup plus importantes que celle obtenu par (Hayani et al., 2020), qui ont trouvé  $30,8 \pm 0,007$  mg EAG/g MS et  $10,1 \pm 0,045$  mg EQ/g MS dans l'extrait hydro-méthanolique de l'*Origanum compactum* de la région Ouazzane, ce qui explique l'intérêt de l'*Origanum compactum* de la région de Ghafsai – Taounate Maroc. Les travaux apportés par (Zeroual et al., 2020 ; Bouyahya et al., 2017) ont aussi montrés dans l'extrait méthanolique des teneurs en polyphénols totaux assez importantes. D'autres études (Ćetković et al., 2007 ; Boizot et Charpentier, 2006) ont démontrés que la teneur en polyphénols d'*Origanum compactum* est plus élevée que celle d'*Origanum glandulosum*. Cette différence dans la teneur en flavonoïdes et le contenu phénolique dans les extraits de la plante dépend de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. La solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant les solvants polaires pour l'extraction (Stanković, 2011). Peut être due aussi à plusieurs facteurs

tels que le climat, le sol, la période de récolte, les conditions de stockage (Podsdek, 2007), et la méthode d'extraction. Le type de standard utilisé peut également changer les résultats (Djeridane et *al.*, 2010).

La haute teneur en tanins condensés a été enregistré par l'extrait hydro-éthanolique par sonication (4,910 mg/ml), ce qui indique que cette méthode extrait mieux ces composés. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de la plante étudiée explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle par la population locale. Effectivement, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides et les terpènes possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment antimicrobiennes, antioxydante, anti-inflammatoires, et bien d'autres (Bouhaddouda, 2016 ; Labiod., 2016).

Nos résultats révèle que toutes les extraits examinés ont montrés une forte capacité antioxydante, se sont avérés capables de réduire le radical DPPH, l'extrait hydro-éthanolique par macération a enregistré la plus forte valeur ( $IC_{50} = 0,064 \pm 0,007$  mg/ml), ce qui signifie que les composés responsables de cette activité sont extraits mieux par macération que par sonication. Plusieurs études ont démontré que les extraits organiques d'*Origanum compactum* se sont avérés actifs et ont montré une activité antioxydante remarquable dans le balayage du radical DPPH, en effet, les résultats de (Bouyahya et *al.*, 2017 ; Zeroual et *al.*, 2020) ont démontré le fort pouvoir antioxydant de l'extrait n-hexanique avec  $IC_{50}$  égale à 39,83 et 35,50  $\mu$ g/ml respectivement, le travail publié par (Hayani et *al.*, 2020) montre aussi l'effet anti-radicalaire de cette plante dans l'extrait hydro-méthanolique ( $IC_{50} = 30,8$   $\mu$ g/ml).

Le pouvoir antioxydant des plantes varie selon la saison de récolte (Lanseur, 2017). Il semble aussi que cette différence d'activité est relative à la concentration en polyphénols dans l'extrait, également peut être due aux impacts des facteurs environnementaux, peut être influencé par la méthode d'extraction et le type de solvant utilisé.

Dans ce modeste travail, le pouvoir antibactérienne de l'*Origanum compactum* a été confirmé. L'extrait hydro-éthanolique par sonication a exercé un effet bactéricide en vers les quatre souches bactériennes utilisées. Nos résultats révélant que *E.coli*, *S.aureus* et *B.subtilis* sont les souches les plus sensible, ce qui implique que les composés responsables de cette activité sont extraits mieux par sonication que par macération. Plusieurs travaux de recherches ont été justifié cette propriété antibactérienne de l'*Origanum compactum*, dans les travaux de (Zeroual et *al.*, 2020) *E.coli* a montré l'activité la plus importante par la méthode de diffusion

sur disque. (Bouhdid et *al.*, 2008) ont été démontrés l'effet bactéricide de l'HE de l'*O.compactum* contre dix souches bactériennes, (Bouyahya et *al.*, 2017) signalent que tous les extraits étudiés sont révélés capables d'inhiber les souches bactériennes testées avec une zone d'inhibition la plus forte de l'ordre de  $34 \pm 1,24$  mm. L'extrait n-hexanique a montré la plus forte activité antibactérienne. Selon certaines études, les extraits et l'huile essentielle de l'*Origanum glandulosum* a montré un effet antibactérien envers diverses souches bactériennes Gram+ et Gram- (Bendahou et *al.*, 2007 ; Kaabour ,2009), Ils ont attribué l'activité de ces huiles à leur richesse en composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol.

Ce résultat pourrait être expliqué par l'extraction de compositions chimiques majeures responsable de ce pouvoir dans les extraits de la plante. Ces composés peuvent provoquer l'altération de la paroi cellulaire et des protéines membranaire ou provoquent la dégradation de la membrane plasmique bactérienne. Ainsi, en perturbant le métabolisme cellulaire elles vont affecter les fonctions vitales de la bactérie telles que la respiration ou encore l'équilibre ionique de la cellule bactérienne (Bernaoui et Louetri, 2018). La différence de la zone géographique, les facteurs environnementaux, la méthode d'extraction et le type de solvant utilisé, aussi la méthode d'évaluation de l'activité, tous sont des variant peuvent influencer l'effet antibactérienne de l'origan vers les souches bactériennes.

D'une manière générale, l'activité antimicrobienne des substances naturelles s'explique par la lyse de la membrane. Les huiles essentielles, flavonoïdes, alcaloïdes voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions de potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort contournables pour les traitements thérapeutiques des infections bactériennes humaines et animales (Khribch et *al.*, 2018).

## *Conclusion*

Les plantes médicinales et aromatiques sont plus utilisées depuis longtemps puisqu'elles contiennent des composants chimiques possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Notre travail dirigé sur la mise en évidence des propriétés antioxydantes et antibactériennes de l'*Origanum compactum*. Ainsi des analyses physicochimique ont été effectuées, montrent la présence d'un certain nombre de groupes chimiques avec des concentrations importantes à savoir les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins condensés.

A la lumière des résultats obtenus lors de ce présent travail et en se basant sur la littérature, nous avons confirmé un important effet inhibiteur des extraits de l'*Origanum compactum*, aussi ces résultats suggèrent l'importance de cette espèce pour son usage dans la pharmacie et la phytothérapie. Si l'on se fonde sur cette information, on pourrait conclure que cette plante est l'une des sources naturelles de substances antibactérienne et antioxydante d'importance élevée.

Cette étude nous a permis de dégager un certains nombres de perspectives faisant suite à ce travail : Il serait important de suivra cette étude par des applications *in-vivo* en étudiant la toxicité de ces substances ( $DL_{50}$ ), pour guider vers élaboration de certains forme galéniques selon le cas ; Compléter cette étude par d'autres tests afin d'envisager d'autres activités biologiques telles que les activités antimutagène et anticancéreuse ; Tester d'autre méthodes d'extraction et leur influence sur la composition chimique et leur capacité biologique ; Des études plus approfondies *in vivo* seraient nécessaires pour mieux comprendre le mécanisme d'action des molécules bioactives, leur dose thérapeutique ainsi que leur site d'action au niveau de la cellule. Cela permettrait de préparer des produits pharmaceutiques de grand intérêt thérapeutique et ayant une origine naturelle.



## Référence bibliographique

- Amakran A, Hamoudane M, Ramdan B, Ben mehdi N, Ben mrid R, et *al.*, (2014) Etude des propriétés antioxydants, antiglyquantes et photochimiques de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* de Tétouan. Science Lib Editions Mersenne 6: 2111-4706.
- Amorati R, et Valgimigli L, (2015) Advantages and limitations of common testing methods for antioxydants, Free Radical Research, vol. 49, no. pp. 1–17.
- Antolovich M, Prenzler P.D, Patsalides E, McDonald S, et Robards K, (2002) Methods for testing antioxydant activity. The Analyst, vol. 127, pp. 183–198.
- Ayaidia B, (2011) étude comparative de trois variétés d'huiles essentielles de menthe dans la région d'Ouargla, mémoire de magister, Université kasdi marbah ouargla.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Zhiri A, Baudoux D, et *al.*, (2006) Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatments with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS. Mutat Res 606: 27-38.
- Barros C, Moura L, Miguel Brito L, et Matos O, (2011) "Actividade antimicrobiana de extractos e óleos essenciais de coentro, oregão e poejo, e seu potencial para a protecção das culturas em horticultura biológica" 3º Colóquio Nacional de Horticultura e 1º Colóquio Nacional de Produção Animal Biológica, 22- 24 Setembro. Braga.
- Bellakhdar J, (1997) Pharmacopée traditionnelle marocaine. Ed. Ibis Press, Paris, Le Fennec, Casablanca.
- Bellakhdar J, Passannanti S, Paternostro MP, et Piozzi F, (1988) Constituents of *Origanum compactum*. Planta Med 54: 94.
- Benabid A, (2000) Flore et écosystème du Maroc : évaluation et préservation de la biodiversité. Ibis Press, Paris, p: 357.
- Bendahou M, Muselli A, Grignon-Dubois M, Benyoucef M, Desjobert JM, Bernardini F, et Costa J, (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* desf. Essential oil and extracts obtained by microwave extraction comparaison with hydrodistillation. Food Chem, 106, 132–139.
- Ben tahar S, (2019) Valorisation du grignon d'olive: optimisation extractive et activité antioxydante. Mémoire de licence. Université Sidi Mouhamed Ben Abdellah-Fès
- Benzie I.F.F et Strain J.J, (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “ Antioxydant Power ”: The FRAP Assay, vol. 76, pp. 70–76.
- Bernaoui Y, et Louetri K, (2018) Caractérisation phytochimique du Genre *Origanum* et leur bio-activités, mémoire de magister. Mémoire de magister. Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED.
- Bessas A, (2008) Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Université Djillali Liabes -Sidi Bel Abbes.
- Blokhina O, Virolainen E et Fagerstedt K.V, (2003) Antioxydants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Ann Bot, 91,179-194.
- Bruneton J, (1999) Pharmacognosie, phytochimie: plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> édition, technique et documentation, (Paris), pp: 299, 301, 540, 1076-1079.

- Boizot N, et Charpentier J.P, (2006) Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier, Le cahier des techniques de l'Inra, 79-82.
- Boudjouref M, (2011) Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L, mémoire de magister, Université Ferhat Abbes, Sétif.
- Bouhaddouda N, (2016) Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, thèse doctorat, Université Badji Mokhtar -Annaba.
- Bouhdid S, Skali S.N, Idaomar M, Zhiri A, Baudoux, et *al.*, (2008) Antibacterial and antioxidant activities of *Origanum compactum* essential oil. Afr. J. Biotech. 7 :1563-1570.
- Bouhdid S, Abrini J, Zhiri A, Espunsky M.J, Manresa A, (2009) Investigation of functional and morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *O. compactum* essential oil. J. Appl. Microbiol. 106: 1558-1568.
- Bouyahya A, Abrini J, Bakri Y et Dakka N, (2017) Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*.
- Carson C.F et Riley T.V, (1995) Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Applied Bacteriology 78, 264-269.
- Ćetković G.S, Čanadanović-Brunet J, Djilas S.M, Tumbas V.T, Markov S.L, et Cetković D.D, (2007) Antioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana* L. subsp. *Kitaibelii* Extracts, International Journal of Molecular Sciences, 8(10), 1013-1027.
- Chafai Elalaoui A, Boukil A, Bachar M, Lkhoumsi D, Guermal A.N, et Aafi A.R, (2014) manuel des bonnes pratiques de collecte de l'origan « *Origanum compactum* ».
- Chaouki W, Leger D.Y, Eljastimi J, Beneytout J.L, et Hmamouchi M, (2010) Antiproliferative effect of extracts from *Aristolochia baetica* and *Origanum compactum* on human breast cancer cell line MCF-7. Pharm Biol 48: 269-274.
- Chebli B, Achouri M, Idrissi-Hassani L.M, et Hmamouchi M, (2003) Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. J. Ethnopharmacol, 89: 165-169.
- Chikhi I, (2014) composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie. thèse doctorat, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- Chun S.S, Vattem D.A, Lin Y.T, et Shetty K, (2005) Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Process Biochem, 40, 809–816.
- Cosentino S, Tuberoso C.I, Pisano B, Satta M, Mascia V, et *al.*, (1999) *In-vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. Lett Appl Microbiol 29: 130-135.
- Costas Á, Thanos C, Costas C, et Skarou F, (1995) Ecophysiology of germination in the aromatic plants thyme, savory and oregano (Labiatae). Seed Science Research. 5, 161-170.
- Cowan M.M, (1999) Plant products as antimicrobial agents. Clinl Microbiol rev, 12,564–582.
- Daels rakotoarison D, (1999) Extraits phénoliques d'aubépine, de cola et d'églantier. Thèse de doctorat, université de Lille-II, France.

- Datta A.G, Bandyopadhyay D, Chattopadhyay A, et Ghosh G, (2004) Oxidative stress induced ischemic heart disease: protection by antioxidants. *Curr Med Chem*, 11, 369-387.
- Davidson P.M, (1997) Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville. (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM, Washington, pp: 520-556.
- De mastro G, (1996) Crop domestication and variability within accessions of *Origanum* genus. In: Padulosi S, ed. *Oregano. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano*, 8-12 May 1996, Valenzano (Bari), Italy. Rome: IPGRI, 34-48.
- Djeridane A, Yousfi M, Brunel J.M, et *al.*, (2010) Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol* 48:2599–606
- Dorman H.J.D, Peltoketoa A, Hiltunen R, et Tikkanen M.J, (2003) Characterisation of the antioxidant properties of deodorised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chem*, 83, 255–262.
- Duthie G, et Crozier A, (2000) Plant-derived phenolic antioxidants. *Curr Opin Lipidol* 11 : 43-47.
- El Babili F, Bouajila J, Souchard J.P, Bertrand C, Bellvert F, et *al.*, (2011) Oregano: chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *J Food Sci* 76: C512-518.
- Elzaawely A.A, Xuan T.D, et Tawata S, (2005) Antioxidant and antibacterial activities of *Rumex japonicus* HOUTT, aerial parts. *Biol Pharm Bull*, 28, 2225—2230.
- Fadel F, Ben Hmamou D, Salghi R, Chebli B, Benali O, et *al.*, (2013) Antifungal Activity and Anti-Corrosion Inhibition of *Origanum Compactum* Extracts. *Int. J. Electrochem. Sci.* 8: 11019 – 11032.
- Figueredo G, (2007) Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse doctorat, Université Blaise Pascal.
- Griffiths H.R, (2016) Antioxidants: Characterization and Analysis, in *Encyclopedia of Food and Health*, 1st ed., B. Caballero, P. Finglas, and F. Toldra, Eds. Elsevier, pp. 221–226.
- Guignard J, (2000) *Biochimie végétal*. 2<sup>ème</sup> édition Dunod. 188.
- 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. mémoire de magister, Université Abou Beker Belkaid- Tlemcen.
- Haslam E, (1996) Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J Nat Prod*, 59, 205–215.
- Hatano, Kagawa, Yasahara, et Okuda, (1988) The effect of extracts on DPPH radical was estimated according to the method. *Food Chemistry* 78 (3) pp. 347-354.
- Hawas U.W, El-Desoky S.K, Kawashty S.A, et Sharaf M, (2008) Two new flavonoids from *Origanum vulgare*. *Natural products researchs* 22, 1540-1543.
- Hayani M, Benhlima N, Bouzoubaa A, Ailli A, Gourich A.A, Mouradi A, Oulhaj H, et Zair T, (2020) Phytochemical study, polyphenols determination and evaluation of antioxidant activity of *Origanum compactum* and *Satureja calamintha* nepeta from the region of Ouazzane (Morocco), *Mediterranean Journal of Chemistry*, 10(4), 396-405.
- Iteipmai, (1998) (Institut Technique pour l'Exploitation Industrielle des Plantes Médicinales, Aromatiques et Industrielles). Fiche technique : Origan. Editeur: Chemillé, France.

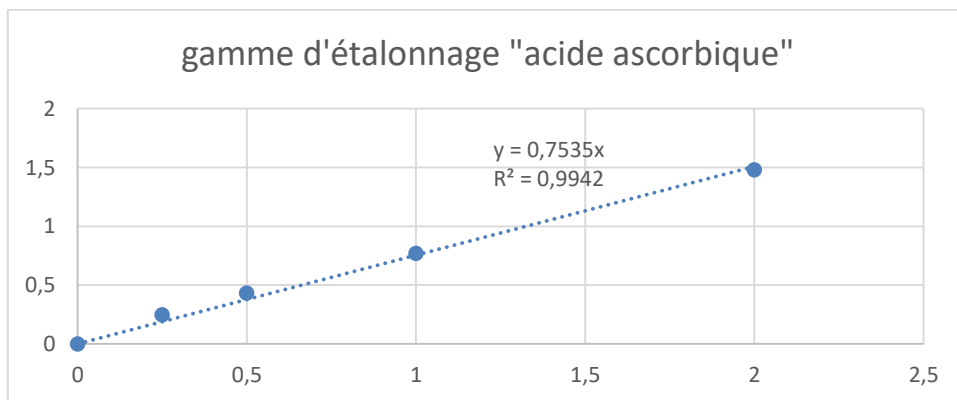
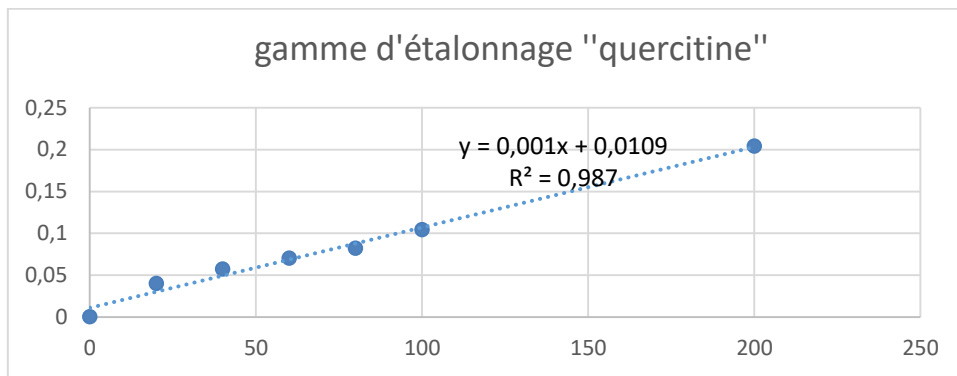
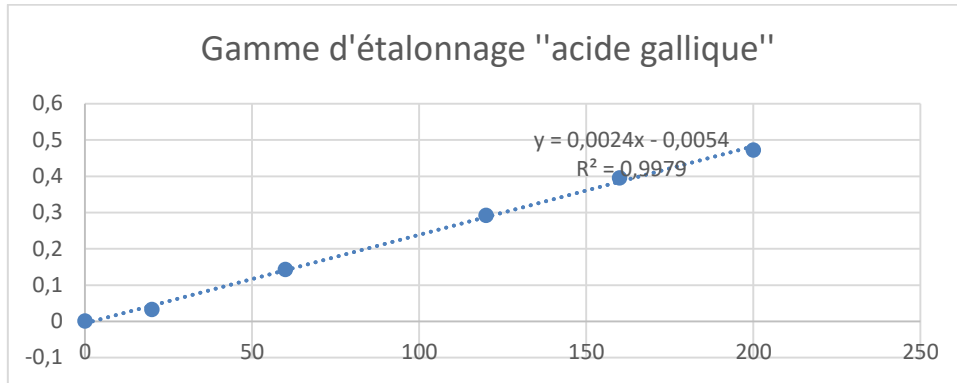
- Jahandiez E et Maire R, (1934) Catalogue des plantes du Maroc - Spermaphytes et ptéridophytes. 3: 630-632.
- Kaabour F, (2009) Activités antioxydantes et antibactériennes des extraits aqueux du thé, de l'origan et du gingembre, Etude in vitro. mémoire de majister.
- Khalfi O, Sahraoul N, Bentahar F, et Boutekedjire T, (2008) Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* essential oil from Algeria. J. Sci. Food Agric. 89 (9), 1562-1566.
- Khribch J, Nassik S, El houadfi M, Zrira S, et Oukessou M, (2018) Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. Rev Marocaine Sci Agron Vét. 6(3):300– 307.
- Kintzios Spiridon E, (2002) Oregano: The genera Origanum and Lippia (Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles) -Taylor&Francis.
- Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, et Mete E, (2008) Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Bioresour. Technol. 99, 8788–8795
- Labiod R, (2016) Valorisation des huiles essentielles et des extraits de satureja calamintha nepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse doctorat. Université Badji Mokhtar –Annaba.
- Lambert R.J, Skandamis P.N, Coote P.J, et Nychas G.J, (2001) A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J Appl Microbiol 91: 453-462.
- Lanseur R, (2017) Evaluation in-vitro des activités anti-oxydante et antiinflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* seules et en combinaison. Mémoire de master. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- Laraba M, Serrat A, et Ouassaa G, (2016) Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale, Université des Frères Mentouri Constantine.
- Levison M.E, (2004) Pharmacodynamics of antimicrobial drugs. Infect Dis Clin North Am; 18 (3): 451–65).
- Liu H, Zheng A, Liu H, Yu H, Wu X, Xiao C, Dai H, Hao F, Zhang L, Wang Y, et Tang H, (2012) Identification of three novel polyphenolic compounds, origanine A-C, with unique skeleton from *Origanum vulgare* L. using the hyphenated LC-DAD-SPE-NMR/MS methods – Journal of Agricultural and Food Chemistry 60 (2012) 129-135.
- Macheix J. J., Fleuriet A, et Jay-Allemand C, (2005) Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique .Bio ed. 54-65.
- Majinda R.R.T, Abegaz B.M, Bezabih M, et autres, (2001) Resent resultants from naturel productrescarch at the university of Botswana, Pure. Appl. Chem. 73 (7) : 1197-1208.
- Marfak A, (2003) Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: Formation de Depsides. Thèse de Doctorat. Université de Limoges. Spécialité: Biophysique, pp:6-34.
- Martini M.C, et Seiller M. Editions médicales internationales Paris. Lavoisier, 1999, 563.

- Mezzoug N, Elhadri A, Dallouh A, Amkiss S, Skali NS, et al., (2007) Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents. *Mutat Res* 629: 100-110.
- Naumann H.D, Tedeschi L.O, Zeller W.E, et Huntley N.F, (2017) The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 929-949. DOI: 10.1590/S1806-92902017001200009.
- NeffatiE M, et Sghaier M, (2014) Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). Pp-11-14.
- Ouedrhiri W, (2017) Optimisation des Propriétés antibactériennes et antioxydantes des l'huiles essentielles de dix plantes aromatiques et médicinales de la région de Taounat, exploitation des outils statistiques (Plans d'expériences) pp-64-65. Thèse de doctorat.
- Paludosi S, (1997) Oregano. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 14. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano – Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research7.
- Pavela R, (2005) Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia* 76: 691-696.
- Pelczar M.J, Chan E.C.S, et Krieg N.R, (1988) Control of microorganisms, the control of microorganisms by physical agents. In: *Microbiology*. New York: McGraw- Hill International, pp: 469-509.
- Pirbalouti A.G, (2007) The effect of different treatments on seeds dormancy and germination of five species of medicinal plants of Chahar Mahal & Bakhteyari Rubrique. *Pajouhesh & Sazandegi*. 74, 185-192.
- Podsdek A, (2007) Natural antioxidant capacity of Brassicavegetables, *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1-11.
- Prieto P, Pineda M, et Aguilar M, (1999) Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.* (269): 337-341.
- Putievsky E, (1983) Temperature and daylength influences on the growth and germination of sweet basil and oregano. *J. Hort. Sci.* 58, 583-587.
- Shahidi, et Zhong Y, (2015) Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, vol. 18, pp. 757–781.
- Shekarchi M, Hajimehdipoor H, Saednia S, Gohari A, Hamedani M, (2012) Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of Labiatae family. *Pharmacognosy Magazine* 8(2012) 37-41
- Sikkema J, de Bont J.A, et Poolman B, (1995) Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol Rev* 59: 201-222.
- Singleton V.L, et Rossi J.A, (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158.
- Stanković M.S, (2011) Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci* 33:63–72.
- Ribéreau Gayon P, (1968) Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris254

- Sutour S, (2010) Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Mémoire de magister. Université de Corse Pascal Paoli.
- Taguri T, Tanaka T, et Kouno I, (2006) Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biol Pharm Bull*, 29(11), 2226—2235.
- treutter D, (2006) Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environment and Chemistry Letter* 4: 147-157.
- Tutin T.G, Heywood V.H, Burges N.A, Moore D.M, Valintine D.H, et *al.*, (1972) *Flora Europaea*. University Press, Cambridge. 3: 171-172.
- Ultee A, Kets E.P, et Smid E.J, (1999) Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol* 65: 4606-4610.
- Van tooren B.F, et Pons T.L, (1988) Effects of Temperature and Light on the Germination in Chalk Grassland Species. *Fubctional Ecology*. 2, 303-310.
- Venkateswara Rao G, Mukhopadhyay T, Annamalai T, Radhakrishnan N, et Sahoo M.R, (2011) Chemical constituents and biological studies of *Origanum vulgare* Linn. *PharmacognosyResearch* 3, 143-145.
- Vukics V, Kery A, Bonn G.K et Guttman A, (2008) Major flavonoid components of heartsease (*Viola tricolor* L.) and their antioxidant activities. *Anal Bioanal Chem*,1206(1),11-20.
- Yamamoto H, et Ogawa M, (2002). Antimicrobial activity of Perilla seed polyphénols against oral pathogenic bacteria. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66 (4),921-924.
- Yvonne et Chadouli S.M, (2012) les plantes aromatiques et médicinales Un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich – Tétouan. pp-5-7
- Zeroual A, Eloutassi N, Chaouch M, et Chaqroune A.L, (2020) antimicrobial, antioxidant activity, and chemical composition of *origanum compactum* benth from taounate province, north morocco. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol 13, issue 3.

# Annexe

## Annexe 1: Gammes d'étalonnage



## Annexe 2 : Analyses statistiques

Analyse de la variance relative à la teneur en polyphénols des différents extraits de l'O.c.

Source de variance	somme des carrés	ddl	moyenne des carrés	F	p-value
<b>Méthode</b>	2 771,236	1	2 771,236	79,224	0
<b>Extrait</b>	30 411,791	4	7 602,948	217,354	0
<b>Méthode*extrait</b>	612,575	4	153,144	4,378	0,011
<b>Erreur</b>	699,591	20	34,98		

Analyse de la variance relative à la teneur en flavonoïdes des différents extraits de l'*O.c.*

Source de variance	somme des carrés	ddl	moyenne des carrés	F	p-value
Méthode	2 674,352	1	2 674,352	47,877	0
Extrait	40 235,217	4	10 058,804	180,077	0
Méthode*extrait	4 470,033	4	1 117,508	20,006	0
Erreur	1 117,167	20	55,858		

Analyse de la variance relative à la teneur en tanins condensés des différents extraits de l'*O.c.*

Source de variance	somme des carrés	ddl	moyenne des carrés	F	p-value
Méthode	3,992	1	3,992	4,604	0,044
Extrait	35,177	4	8,794	10,143	0
Méthode*extrait	5,157	4	1,289	1,487	0,244
Erreur	17,34	20	0,867		

Analyse de la variance relative à la capacité antioxydante des différents extraits de l'*O.c.*

Source de variance	somme des carrés	ddl	moyenne des carrés	F	p-value
Méthode	13 218,578	1	13 218,578	95,591	0
Extrait	49 633,793	4	12 408,448	89,732	0
Méthode*extrait	4 737,114	4	1 184,278	8,564	0
Erreur	2 765,665	20	138,283		

Analyse de la variance relative au rendement de l'EHE de l'*O.c.*

Source de variance	somme des carrés	ddl	moyenne des carrés	F	p-value
Méthode	46,786	1	46,786	119,397	0,008
Erreur	0,784	2	0,392		

Analyse de la variance relative à l'activité anti-radicalaire des différents extraits de l'*O.c.*

Source de variance	somme des carrés	ddl	moyenne des carrés	F	p-value
METHODE	0	1	0	0	1
EXTRAIT	0	4	0	0	1
METHODE*EXTRAIT	0	4	0	0	1
Erreur	20	20	1		