

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn Témouchent



Institut des sciences
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du Diplôme de Master en sciences biologiques
Option : Biochimie

Thème

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'*Origanum vulgare L*

Présenté et soutenu par :

Le : 29/06/2019

M^{elle}. TALEB Zineb

M^{elle}. ZEMMOUR Nadia

Devant les jurys :

Président : Dr. BAKLI.M. Maître de Conférences B C.U.B.B.A.T

Examineur : Dr. BENYAMINA.S. Maître de Conférences B C.U.B.B. A.T

Encadrant : Dr. ZERRIOUH.M. Maître de Conférences B C.U.B.B. A.T

Année universitaire : 2018/ 2019



Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier *DIEU* le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail qui sanctionnera nos efforts et servira à notre réussite.

Nous tenons aussi à exprimer tout notre respect, nos vifs remerciements et notre immense gratitude à notre encadreur *Dr. ZERRIOUH Meriem* pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, pour sa rigueur et pour sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent aussi aux membres de jury, *Dr. BAKLI.M* en étant président de jury et *Dr. BENYAMINA.S* pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous voudrions aussi remercier tous les enseignantes et les enseignants au département de biologie qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours universitaire. Ainsi, nous remercions les techniciens du laboratoire pour leur aide, avis et conseils durant toute notre pratique.

Nous remercions également nos familles *TALEB* et *ZEMMOUR* pour leur soutien et leur amour.

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce travail à tous ceux qui me sont chers :

A mes chers parents qui m'ont encouragé tout au long de mon parcours d'étude
et qui m'ont soutenu dans les bons et les mauvais moments de ma vie.

A mes adorables sœurs **Assia** et **Kawtar**.

J'adresse une spéciale dédicace à une personne unique et magnifique, ma
chère amie et sœur **ACHROUF Nadja**.

Zineb

Dédicace

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers : Mes parents,

A mon père,

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit l'accomplissement de tous tes efforts.

A ma mère,

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce à vous **MES CHERS PARENTS** que je le dois, que Dieu vous garde.

A mes chers frères : **Mohamed, Youcef, et Salah Eddine** pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

A ma unique et adorable sœur : **Leila** pour sa bonté, sa générosité, ses encouragements, et son aide si précieuse qui a rendu possible la soutenance de ce mémoire.

A mes nièces adorées : **Nihel et Ines**

A mon beau frère

A tous mes cousins, et cousines

A tous mes tantes et oncles

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nadia

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION.....	01
--------------------------	-----------

Synthèse bibliographique

CHAPITRE 1 : Stress oxydatif et activité antioxydante	02
--	-----------

1. Stress oxydatif.....	02
--------------------------------	-----------

1.1. Radicaux libres.....	02
----------------------------------	-----------

1.2. Origine des radicaux libres.....	02
--	-----------

➤ Origine endogène	02
---------------------------------	-----------

➤ Origine exogène.....	02
-------------------------------	-----------

1.3. Stress oxydatif et les radicaux libres.....	03
---	-----------

2. Activité antioxydante.....	03
--------------------------------------	-----------

2.1. Définition des antioxydants.....	03
--	-----------

2.2. Mécanisme d'action des antioxydants.....	04
--	-----------

➤ Système de défense primaire.....	04
---	-----------

➤ Système de défense secondaire.....	04
---	-----------

CHAPITRE 2 : Inflammation et activité anti-inflammatoire.....	05
--	-----------

1. Définition de l'inflammation.....	05
---	-----------

2. Les différents types de la réponse inflammatoire.....	05
---	-----------

➤ Inflammation aiguë.....	05
----------------------------------	-----------

➤ Inflammation chronique.....	05
--------------------------------------	-----------

3. Les inducteurs de l'inflammation.....	06
---	-----------

➤ Les inducteurs endogènes.....	06
➤ Les inducteurs exogènes.....	06
4. Le mécanisme de l'inflammation.....	06
5. Traitement de l'inflammation.....	07
➤ Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	07
➤ Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS).....	07
CHAPITRE 3 : <i>Origanum vulgare L.</i>	09
1. Description botanique.....	09
2. La systématique d' <i>O vulgare L.</i>	09
3. La composition chimique de l'huile essentielle d' <i>O. vulgare L.</i>	10
4. Activité biologique de l'huile essentielle d' <i>O. vulgare L.</i>	11
Matériels et méthodes	
1. Extraction de l'huile essentielle.....	13
1.1. Matériel végétal.....	13
1.2. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	13
2. Détermination des indices physico-chimiques de l'huile essentielle d' <i>O.vulgare L.</i> ..	15
2.1. La densité relative à 20 °C.....	15
2.2. L'indice de réfraction.....	15
3. Etude <i>in vitro</i> de l'activité biologique de l'huile essentielle d' <i>O. vulgare L.</i>	16
3.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	16
3.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique.....	17
a. Préparation de la suspension érythrocytaire.....	17
b. Test de stabilisation membranaire par la chaleur.....	18

c. Test d'hémolyse.....	19
-------------------------	----

Résultats et discussions

1. Huile essentielle d'<i>O. vulgare</i> L.....	20
1.1. Le rendement en huile essentielle.....	20
1.2. Indices physico-chimiques de l'huile essentielle.....	20
2. Les activités biologiques d'<i>O.vulgare</i> L.....	21
2.1. L'activité antioxydante (<i>in vitro</i>).....	21
2.2 L'activité anti-inflammatoire (<i>in vitro</i>).....	23
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	25
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	26
RESUME	

Liste des tableaux

Tableau n° 01 :	Les différents types des antioxydants.....	04
Tableau n° 02 :	Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d' <i>O.vulgare L</i>	16
Tableau n° 03 :	Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique.....	17
Tableau n° 04 :	Mode opératoire du test de la stabilisation membranaire par la chaleur.....	18
Tableau n° 05 :	Mode opératoire du test d'hémolyse.....	19
Tableau n° 06 :	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>O. vulgare L</i> ...	20
Tableau n° 07 :	Activité antioxydante d' <i>O. vulgare L</i> exprimée en pourcentage d'inhibition et en IC ₅₀	21
Tableau n° 08 :	Effet de l'huile essentielle d' <i>O. vulgare L</i> contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induite dans la chaleur et dans la solution hypotonique.....	23

Liste des figures

Figure n °01 :	Les systèmes de défense contre les radicaux libres	04
Figure n °02 :	<i>Origanum vulgare L</i>	09
Figure n °03 :	Les composés de l'huile essentielle d' <i>O.vulgare L</i> (les terpènes)....	10
Figure n °04 :	Les composés de l'huile essentielle d' <i>O.vulgare L</i> (composés aromatiques et terpénoïdes).....	11
Figure n °05 :	Aspect d' <i>O. vulgare L</i> à l'état frais (A) et à l'état sec (B).....	13
Figure n °06 :	Montage utilisé dans l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle d' <i>O.vulgare L</i>	14
Figure n °07 :	Piégeage du DPPH par l'acide ascorbique.....	22
Figure n °08 :	Piégeage du DPPH par l'huile essentielle d' <i>O.vulgare L</i>	22

Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées en médecine traditionnelle depuis des siècles. Environ 400 composés dérivés de plantes sont actuellement utilisés dans des formulations de médicaments (**M. Musthaba 2010**).

La famille des Lamiacées, est l'une des familles de plantes médicinales les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels, les espèces de cette famille sont connues actives grâce aux composés bioactifs qu'elles renferment (**Kechar et al., 2016**).

L'Algérie est un pays riche en espèces médicinales et possède une biodiversité végétale immense dotée de pouvoirs thérapeutiques très intéressants due grâce à sa situation géographique, sa variation climatique et de grandes ressources hydriques (**Quezel et Santa 1962**).

Aujourd'hui, le consommateur est devenu plus conscient et s'intéresse à l'utilisation des produits naturels issus de plantes médicinales, car ils ont prouvé un effet thérapeutique très important, et à l'inverse des produits synthétiques, ils ne présentent pas d'effets secondaires (**Bruneton 1999**).

Parmi ces produits naturels, les huiles essentielles sont largement utilisées pour des applications biologiques, médicinales et cosmétiques grâce à leurs caractérisations par diverses molécules volatiles, des composants aromatiques dérivés du phénol et des composants aliphatiques (**Bakkali, Averbeck et al., 2008**).

L'objectif de notre travail est d'évaluer *in vitro* le pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare L*, appartenant à la famille des Lamiacées. En effet, cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle, pour le traitement de plusieurs maladies, grâce à ces propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

Notre travail est composé de deux parties, dans la première partie nous allons présenter le stress oxydatif et l'activité antioxydante, l'inflammation et le mécanisme anti-inflammatoire ainsi qu'une présentation d'*O. vulgare L* et de la composition chimique de son huile essentielle. Dans la deuxième partie nous allons procéder à l'extraction de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* et à l'étude de ses propriétés physico-chimiques, et ensuite nous passons à l'étude « *in vitro* » des activités antioxydante et anti-inflammatoire de cette huile essentielle.

Chapitre 1 : Stress oxydatif et activité antioxydante

1. Stress oxydatif

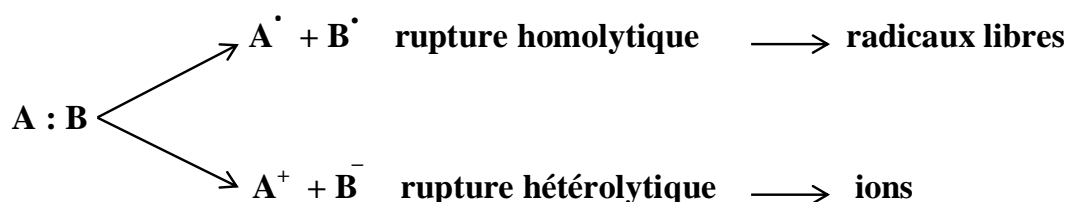
1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres fréquemment appelés espèces réactives d'oxygènes (ERO), sont des espèces chimiques possédant au moins un électron libre non apparié (électron célibataire) instable, doté d'une forte énergie (Halliwell 1996), sur leur orbitale électronique externe (Govindarajan et al., 2005). Les principaux radicaux libres présents dans les cellules aérobies sont : l'oxygène, les ions superoxydes, les radicaux hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène et les métaux de transition (Hübert et al., 2016).

Les radicaux libres sont des éléments très réactifs, car leur électron a tendance à se réappairier en déstabilisant ainsi d'autres molécules, qui vont devenir à leur tour des radicaux libres en initiant une réaction en chaîne (Dacosta 2003).

1.2. Origine des radicaux libres

Les radicaux peuvent se former par transfert mono-électronique ou par scission homolytique de liaison covalente selon les réactions suivantes (Gardès-Albert et al., 2003) :



Il existe deux origines pour les radicaux libres :

- **Origine endogène** : dans laquelle, les radicaux libres sont formés par divers mécanismes physiologiques, au cours de métabolismes de l'oxygène dans les mitochondries, lors de la défense antibactérienne, les réactions inflammatoires (les cellules phagocytaires libèrent un anion superoxyde) et aussi au cours de la régulation des fonctions cellulaires létales (apoptose) (Pincemail et al., 2002).
- **Origine exogène** : Les espèces oxygénées réactives sont produites par différents agents extérieurs (Favier 2003); les rayonnements UV, les radiations ionisantes, l'ingestion d'alcool, l'oxydation de l'acétaldéhyde, les particules inhalées (amiante, silice) (Mohammedi 2006).

1.3. Stress oxydatif et les radicaux libres

Dans les conditions normales, les radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production corporelle est entièrement vérifiée par des systèmes de défense, souvent adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ce cas, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants (ERO) est en équilibre, ce qui signifie un état redox physiologique idéal (**Garnier et al., 2005**). Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydant ou par une surproduction énorme de radicaux libres, l'excès de ces derniers est appelé «stress oxydant» (**Favier 2003**), ce qui indique l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des ERO (**Koechlin-Ramonatxo 2006**).

L'apparition des dégâts irréversibles cellulaires et tissulaires issus de l'accumulation des ERO dans le corps et dans les cibles biologiques les plus fragiles sont les protéines, les lipides et l'ADN (**Smirnoff 2005**), ce qui est en relation avec l'apparition des maladies neuro-dégénératives telles que l'Alzheimer (**Butterfield et Lauderback 2002**), l'artériosclérose, le diabète, et le cancer (**Gardner, 1997**), les maladies cardiovasculaires (**Teixeira et al., 2002**).

2. Activité antioxydante

Le potentiel antioxydant des individus dépend des habitudes alimentaires, mode de vie, et les caractéristiques génétiques ou environnementales dans lesquelles ils vivent (**Diallo 2005**).

2.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont définis comme étant toute substance chimique qui réagit avec les radicaux libres et les rend ainsi inoffensifs (**Dupin et al., 1992**).

Ce sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, inhiber directement à faible dose la production, limiter la propagation et de détruire les ERO (**Favier, 2003**).

Les antioxydants peuvent être d'origine synthétique ou naturelle (tableau n°1). Ces derniers sont soit synthétisés par le processus du métabolisme dans le corps humain ou bien ils sont d'origine exogène apportés par l'alimentation (**Misra et al., 2014**).

Tableau n°1 : Les différents types des antioxydants.

Les types des antioxydants	Exemples	Références
Antioxydants synthétiques	Butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylé (PG), tétra-butylhydroquinone (TBHQ)	(Lin et Fung 1983)
Antioxydants naturels	Béta- carotène, albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E.	(Svoboda et Hampson 1999)

2.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants sont classés en deux catégories, selon leur mode d'action (figure n°1) :

- **Système de défense primaire** : Comme la catalase et la peroxydase qui empêchent la production d'ERO en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation. Ils agissent donc en prévention (Huang et al., 2005).
- **Système de défense secondaire** : Comme les polyphénols, qui sont capables de piéger directement les radicaux oxydants en brisant la chaîne radicalaire qui bloque les réactions de propagation en formant des produits non radicalaires (Buettner 1993).

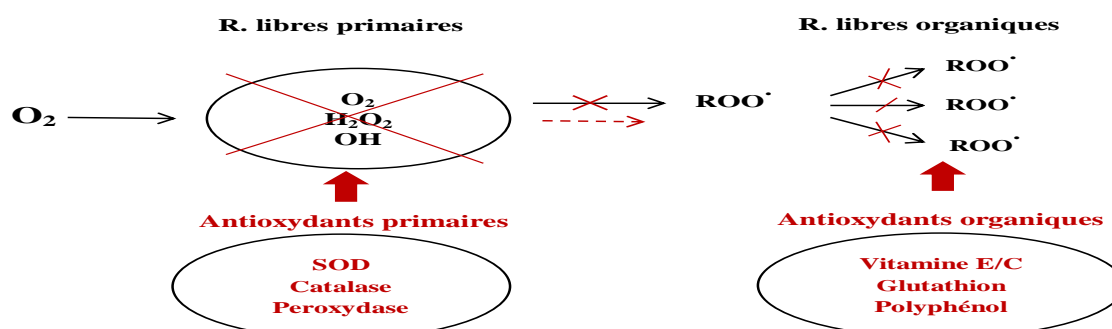


Figure n°1 : Les systèmes de défense contre les radicaux libres (Binov, 2001).

Chapitre 2 : Inflammation et activité anti-inflammatoire

1. Définition de l'inflammation

En 1794, le chirurgien Ecossais John Hunter écrivait que «**l'inflammation en soi ne doit pas être considérée comme une maladie, mais comme une opération salutaire résultant d'une violence ou d'une maladie**» (Serhan et Savill 2005)

L'inflammation est définie comme une réponse de défense qui est déclenchée par des agents pathogènes et des conditions telles qu'une infection et une lésion tissulaire. Elle est utilisée par les systèmes immunitaires innés et adaptatifs pour l'élimination des intrus pathogènes et pour la réparation du tissu lésé (Medzhitov 2008 ; Ashley et al., 2012).

L'inflammation se manifeste par quatre signes cardinaux (la rougeur, l'œdème, la chaleur, la douleur) résultant d'une augmentation du flux sanguin, d'une augmentation de la perméabilité capillaire permettant aux compléments, aux anticorps et aux cytokines de franchir la barrière endothéliale et de la migration des leucocytes vers le tissu lésé pour une réparation de la lésion (Yougbaré-Ziébrou et al., 2016).

2. Les différents types de la réponse inflammatoire

Décrypter les origines des maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes a commencé à susciter l'intérêt des chercheurs afin de freiner l'inflammation (Feehan et Gilroy 2019).

L'inflammation est résolue par des voies nécessaires pour éliminer les cellules inflammatoires présentes dans les sites d'infection ou de lésion afin de restaurer la fonction tissulaire, entraînant un ensemble complexe de médiateurs, des inducteurs, des capteurs et des effecteurs, chaque composant détermine le type de la réponse inflammatoire (Medzhitov 2008 ; Feehan et Gilroy 2019).

On distingue deux types d'inflammation :

➤ **Inflammation aiguë** : qui est souvent caractérisée par l'afflux rapide de granulocytes sanguins (des neutrophiles), suivis rapidement par les monocytes qui évoluent en macrophages inflammatoires. L'inflammation est résolue si les granulocytes sont éliminés et si la population de cellules mononuclées tissulaires (macrophages et lymphocytes) revient aux normes de pré-inflammation (Serhan et Savill 2005).

➤ **Inflammation chronique** : en cas où la réponse inflammatoire aiguë n'arrive pas à éliminer l'agent pathogène, le processus inflammatoire persiste plus longtemps (pendant

des mois et des années) et acquiert de nouvelles caractéristiques et devient chronique. L'infiltrat de neutrophiles est remplacé par des macrophages, également par des cellules LTc. Si l'effet combiné de ces cellules est toujours insuffisant, il s'ensuit un état inflammatoire chronique, provoquant des maladies inflammatoires chroniques, notamment le cancer et l'auto-immunité (**Medzhitov 2008 ; Kumar 2019**).

3. Les inducteurs de l'inflammation

Les inducteurs de l'inflammation sont subdivisés en deux groupes :

- ✓ **Les inducteurs endogènes** : ils sont produits généralement par des lésions tissulaires aiguës, la nécrose cellulaire, la dégradation de la matrice extracellulaire (**Medzhitov 2008**).
- ✓ **Les inducteurs exogènes** : ils regroupent les inducteurs microbiens (facteurs de virulence, les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs)) et les inducteurs non-microbiens (les allergènes, corps étrangers...) (**Medzhitov 2008**).

4. Le mécanisme de l'inflammation

L'activation d'une réponse inflammatoire est une nécessité obligatoire afin d'éradiquer les menaces sur l'organisme hôte (**Feehan et Gilroy 2019**). Cependant, l'activation du système immunitaire (la présentation d'antigènes par les CPA, l'irritation des cellules, les cellules nécrotiques ou les processus auto-immuns...) peut entraîner une réponse immunitaire et une inflammation (**Rasch et Algül 2014**).

Le système immunitaire est distingué en un système immunitaire inné et un système immunitaire adaptatif (**Rasch et Algül 2014**). Dont leurs composants cellulaires jouent un rôle primordial dans les mécanismes d'inflammation aiguë et chronique (**Kumar 2019**).

L'initiation de l'inflammation est médiée par les cellules immunitaires résidentes via des récepteurs de reconnaissance d'agents pathogènes (PRR) tels que les récepteurs de type Toll (TLR), conduisant à la synthèse de médiateurs solubles tels que les cytokines pro-inflammatoires, qui activent les voies de signalisation pro-inflammatoires (**Feehan et Gilroy 2019**). Cette signalisation induit l'activation de cellules immunitaires supplémentaires. Les granulocytes infiltrant produisent des radicaux cytotoxiques d'oxygène et d'azote pour combattre les agents pathogènes (**Rasch et Algül 2014**). Les neutrophiles sont présents principalement dans les tissus blessés et enflammés (**Serhan et Savill 2005**) qui vont éliminer

les débris tissulaires et les microorganismes suivant les mécanismes intracellulaires (la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)), et/ou des mécanismes extracellulaires (la libération de pièges extracellulaires de neutrophiles) (**Feehan et Gilroy 2019**).

5. Traitement de l'inflammation

Deux classes de médicaments anti-inflammatoires sont généralement prescrites pour traiter l'inflammation :

➤ **Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)** également appelés les glucocorticoïdes, nommés ainsi en raison de leur effet sur le métabolisme du glucose, est dû à l'activation des récepteurs stéroïdiens intracellulaires pratiquement ubiquitaires (**Henzen 2003**). Cet anti-inflammatoire stéroïdien se lie aux éléments de réponse des glucocorticoïdes (GRE) formant le complexe glucocorticoïde-récepteur, ensuite se lie sur les parties promotrices des gènes sensibles aux glucocorticoïdes ce qui entraîne la transcription des gènes codant pour des protéines anti-inflammatoires, et l'inhibition de l'expression de plusieurs gènes inflammatoires (**Barnes 1998**).

➤ **Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)** sont largement prescrits à travers le monde, d'après les travaux de **Sandilands and Bateman (2016)** ils appartiennent à différents groupes chimiques :

- **Les oxicams** : méloxicam, piroxicam, ténoxicam.
- **Les dérivés de l'acide phénylpropionique** : le fenbufène, l'ibuprofène, le naproxène, l'acide tiaprofénique, l'acide méfénamique.
- **Les coxibs** : sont des agents sélectifs de la cyclooxygénase-2 (COX-2) (par exemple : le célécoxib, l'étoricoxib).
- **L'acide méfénamique** : est fréquemment prescrit pour la dysménorrhée.

Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens agissent en inhibant la cyclo-oxygénase (COX), qui sont responsables de la synthèse des prostaglandines impliquées dans les processus physiologiques normaux (**Sandilands et Bateman 2016**). Ces médicaments sont principalement utilisés pour le soulagement symptomatique de la douleur, que ce soit traumatique, infectieuse, épisodique ou rhumatologique (**Moore et al., 2019**).

L'efficacité de ces anti-inflammatoires chimiques (les AINS et les AIS), n'est pas exempte de toxicité ou d'effets secondaires, qui peuvent se produire suite à un surdosage ou une utilisation prolongée (**Sandilands et Bateman 2016**). Pour cela, les chercheurs travaillent pour découvrir de nouveaux anti-inflammatoires plus efficaces, et avec moins d'effets

Synthèse bibliographique

secondaires, les plantes médicinales représentent une source prometteuse, vu leur richesse en métabolites secondaires anti-inflammatoires.

Chapitre 3 : *Origanum vulgare L*

1. Description botanique

Le genre *Origanum* est une plante aromatique herbacée vivace appartenant à la famille des Lamiacées. C'est une plante indigène de la Méditerranée, de l'Euro-Sibérie, de l'Afrique du Nord et de nombreux autres pays asiatiques à températures modérées, où elles poussent sur des terrains montagneux ou ouverts (N. Aligiannis 2001). Cependant, le terme origan provient de deux mots grecs « oros » et « genos », c'est-à-dire « éclat des montagnes » (Jean Dubois 2006).

L'origan est un sous arbrisseau vivace de la classe des dicotylédones qui mesure de 30 à 80 cm de haut, aux feuillages et aux fleurs odorantes quand on les froisse. Il est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude. (Teuscher Eberhard 2004).

2. La systématique d'*Origanum vulgare L* (Guignard 1996)

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
sous-classe	Gamopétales
Série	Superovariées tétra-cycliques
Super ordre	Tubiflorales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum vulgare</i>



3. La composition chimique de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent à deux séries distinctes : la série terpénique et la série des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Figueredo 2012).

Plus d'une centaine de composés ont été identifiés dans l'*O. vulgare L*, ce qui représente 92.4% de la composition de son huile essentielle. C'est une huile riche en hydrocarbures monoterpéniques, on retrouve également quelques monoterpènes et des sesquiterpènes (Caillaud 2013) (figure n°3 et n°4). Une grande variabilité de la composition en huile essentielle existe en fonction de la localisation géographique de la plante.

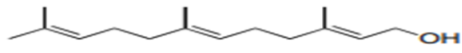
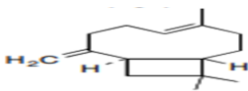
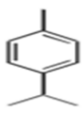
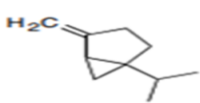


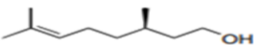
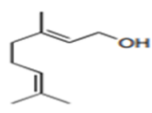
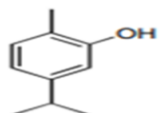
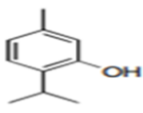
1. Terpènes	
-Sesquiterpènes	
<p>*Carbure</p>  <p>Farnesol</p>	<p>*Alcool</p>  <p>Caryophyllene</p>
-Monoterpènes	
<p>*Carbure monocyclique</p>  <p>Cymène</p>  <p>Sabinène</p>	<p>*Carbure bicyclique</p>  <p>Alpha-pinène</p>  <p>Bétapinène</p>
<p>*Alcool acyclique</p>  <p>Citronellole</p>  <p>Géraniol</p>	<p>*Phénol</p>  <p>Carvacrol</p>  <p>Thymol</p>

Figure n°3 : Les composés de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* (les terpènes) (Bakkali et al., 2008).

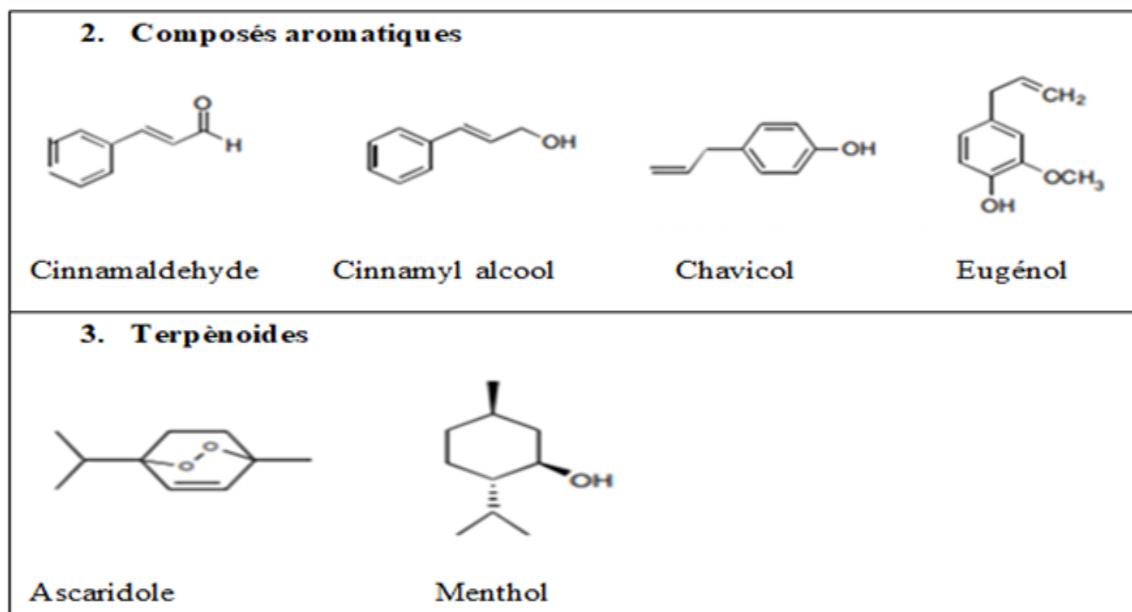


Figure n°4 : Les composés de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* (composés aromatiques et terpénoïdes) (Bakkali et al., 2008).

4. Activité biologique de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*

L'*O. vulgare L* communément appelé « zaâter » en Algérie, est une plante essentiellement médicinale qui jouit une grande ferveur populaire (Baba Aissa, 1990), c'est une panacée, employée en infusions dans le traitement des dysenteries, des colites, des affections gastro-intestinales, de l'acidité gastrique et des affections broncho-pulmonaires. L'*O. vulgare L* s'avère aussi efficace contre les rhumes, les gripes, les affections O.R.L, les bronchites, et les affections de la bouche (aphtes et gingivites) (Bellakhdar 1997). En cuisine, l'*O. vulgare L* est utilisé comme épices, aromates et condiments, et est également une des herbes culinaires au marché le plus important (Goust 1999).

L'huile essentielle de l'origan constitue un produit qui voit différentes utilisations industrielles, en alimentation, en parfumerie, en pharmacie et en aromathérapie (Bellakhdar 1997).

Plusieurs travaux ont été réalisés sur l'huile essentielle d'*O. vulgare L* et différentes activités biologiques ont été prouvées, l'activité anti-oxydante et qui est attribuée aux composés phénoliques principalement le thymol et le carvacrol (Caillaud 2013), ainsi que l'activité anti-inflammatoire qui est due par les terpénoïdes (Soltani 2016), de même, une haute teneur en carvacrol induit des effets antiprolifératifs et inhibe de manière significative plusieurs biomarqueurs inflammatoires (Han et Parker 2017).

Synthèse bibliographique

L'activité antimicrobienne est donc principalement due à la présence d'huile essentielle de ces composés phénoliques (carvacrol et ou thymol), de même la position relative du groupe hydroxyle au sein de la structure phénolique peut contribuer aux pouvoirs antibactériens des composants de l'huile essentielle. Les espèces à thymol sont en effet un peu plus sensibles que celle à carvacrol (**Kintzios 2002**).

L'activité anti-oxydante des huiles essentielles est l'une des caractéristiques biologiques de grand intérêt, elles sont attribuées à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques et quelques monoterpènes (**Edris 2007**).

Jukić et Miloš (2005) ont montré dans une recherche portant sur l'huile essentielle d'*Origanum vulgare L* que les chémotypes phénoliques (thymol et carvacrol) et non phénoliques (linalool) sont capables de réduire le radical de DPPH, avec un effet plus élevé enregistré pour les chémotypes phénoliques. Les phénols et les polyphénols qui sont responsables de pouvoir antioxydant de ces huiles sont développés comme substitut dans la conservation alimentaire (**Diallo 2005**).

1. Extraction de l'huile essentielle

1.1. Matériel végétal

L'*Origanum vulgare L* a été collectée en mars 2019 dans la région de Benisaf wilaya d'Ain Témouchent, et a été identifiée par M^f Amara Mohamed (Maître de conférences au CUBBAT). Les parties aériennes de la plante ont été séchées à l'ombre et à l'abri de l'humidité, pour être utilisées dans l'extraction de leurs huiles essentielles.



Figure n°5 : Aspect d'*O. vulgare L* à l'état frais (A) et à l'état sec (B) (photos originales).

1.2. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

➤ Principe

Hydrodistillation consiste à immerger le matériel végétal dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition, la chaleur provoque l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans les cellules végétales. Le mélange volatil est ensuite refroidi, condensé puis séparé en une phase aqueuse et une phase organique qui constitue l'huile essentielle (Tremblin 2016).

➤ Mode opératoire

Dans la figure n°6, est illustré le schéma de l'appareillage utilisé pour l'obtention de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* par hydrodistillation, les étapes suivies sont :

Matériels et méthodes

- Introduire 50 g de l'échantillon dans un ballon en verre de 1 litre.
- Ajouter une quantité suffisante d'eau distillée (sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition).
- Porter à ébullition à l'aide de chauffe ballon pendant 2h, les huiles qui s'évaporent sont ainsi récupérée par condensation en contact avec la surface froide du réfrigérant.
- Par la suite, l'huile essentielle est séparée par décantation puis récupérée dans des flacons opaques bien scellés, et enfin conservée à température basse (4-5 C°).
- Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage de matière sèche est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{P_x}{P_y} \cdot 100$$

R : rendement exprimé en pourcentage % (g/g)

P_x : poids de l'huile en g.

P_y : poids de la plante en g.



Figure n°6 : Montage utilisé dans l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* (photo originale).

2. Détermination des indices physicochimiques de l'huile essentielle d'*O.vulgare L*

Les différents caractères organoleptiques ont été notés de l'huile essentielle : aspect, couleur, odeur.

2.1. La densité relative à 20 °C

➤ Principe

La densité relative d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau à la même température (**Baser et Buchbauer 2015**).

➤ Mode opératoire

- A l'aide d'une balance, peser un certain volume de l'huile essentielle, noter le poids correspondant à ce volume. Faire la même chose pour l'eau (le volume de l'eau doit être égal à celui de l'huile).
- Calculer le rapport $\rho = \frac{m}{v}$ pour l'huile et pour l'eau.
- Mesurer la densité de l'huile essentielle en calculant le ratio ρ_{He}/ρ_{eau} .

2.2. L'indice de réfraction

➤ Principe

Indice de réfraction est représenté par le rapport du sinus de l'angle d'incidence (i) au sinus de l'angle de réfraction (e) d'un faisceau lumineux passant d'un milieu moins dense à un milieu plus dense, comme de l'air à l'huile essentielle (**Baser et Buchbauer 2015**).

$$\frac{\sin_i}{\sin_e} = \frac{N}{n}$$

N : indice de réfraction du milieu le plus dense.

n : indice de réfraction du milieu le moins dense.

➤ Mode opératoire

Pour le mesurer on a utilisé un réfractomètre Abbe AR3/AR4 (KRUSS, A.KRUSS OPTRONIC, Germany), en suivant les étapes suivantes :

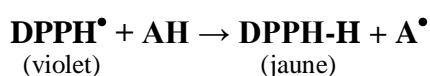
- Quelques gouttes d'eau distillée sont appliquées sur le prisme à l'aide d'une pipette, à la stabilisation de la température, le zéro de l'appareil est réglé ainsi à 1,3330nD.
- Dans un deuxième temps, une petite quantité d'échantillon de l'huile est appliquée sur le prisme à l'aide d'une pipette, l'indice de réfraction est lu directement sur l'écran.

3. Etude *in vitro* de l'activité biologique de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*

3.1. Evaluation de l'activité antioxydante

➤ Principe

L'activité anti-radicalaire de l'huile essentielle de l'*O. vulgare L* a été évaluée, *in vitro*, par le test de DPPH, selon la méthode décrite par **Molyneux (2004)**. Le réactif est le radical DPPH[•] (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette qui vire au jaune, quand il est réduit par les espèces anti-oxydantes(AH) présentes dans le milieu réactionnel. L'intensité de la coloration est mesurée à 517nm (**Molyneux 2004**).



➤ Mode opératoire

Les tableaux n°2 et n°3 résument le mode opératoire et les différentes étapes suivies pour la détermination de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique utilisé comme un contrôle positif.

- 2ml de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*, ou de l'acide ascorbique préparés à différentes concentrations, sont additionnés de 2ml de solution éthanolique de DPPH à 2.5%.
- Le mélange est bien agité, et laissé incubé à température ambiante pendant 30 min.
- La lecture de l'absorbance est réalisée à 517nm, par un spectrophotomètre UV/Vis (Multi-cell changer 6715UV/Vis JENWAY).
- Les résultats obtenus pour l'huile testée ont été comparés par rapport à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme antioxydant de référence.

Tableau n°2 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*O.vulgare L*.

Concentration de l'huile essentielle (µg/ml)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Volume de l'huile essentielle (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Volume du DPPH 2,5% (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Incubation pendant 30min										
Lecture de la DO 517nm										

Tableau n°3 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique.

Concentration de l'acide ascorbique (µg/ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume de l'acide ascorbique (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Volume du DPPH 2,5% (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Incubation pendant 30 min										
Lecture de la DO 517nm										

- La concentration qui provoque la réduction de 50% du DPPH, appelée la concentration Inhibitrice à 50% (**IC₅₀**), est calculée pour l'huile essentielle et l'acide ascorbique par l'équation suivante (**Molyneux 2004**):

$$\% d'inhibition = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs control}} \times 100$$

(Abs : absorbance).

3.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique

➤ Principe

Activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle peut être étudiée in vitro par l'utilisation des membranes des érythrocytes qui représentent des similitudes avec d'autres membranes cellulaires notamment des lysosomes, l'effet sur la stabilisation de la membrane érythrocytaire pourrait être extrapolé à la stabilisation de la membrane lysosomale (**Shobana et Vidhya 2016**). Dans notre étude, nous avons utilisé deux tests, un test de stabilité par la chaleur et un test d'hémolyse, en se basant sur la méthode suivie par Shinde et ces collaborateurs (**Shinde et al., 1999**).

➤ Mode opératoire

a. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang a été prélevé d'un volontaire sain (Femme/ 24 ans) qui n'a pas pris des médicaments anti-inflammatoires pendant 15 jours avant le prélèvement. L'obtention des globules rouges du sang total a été effectuée comme suit :

Matériels et méthodes

- Le sang total est centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm.
- Le culot ainsi récupéré, est lavé trois fois avec une solution de NaCl (0,9%), et reconstitué dans une solution tampon iso-saline (pH=7.4), à 40% (v/v).

b. Test de la stabilisation membranaire par la chaleur

Le tableau n°4, résume les différentes étapes utilisées dans le test de stabilisation membranaire par la chaleur. Deux séries de tubes ont été utilisés pour ce test, une est incubée à 54°C et l'autre à 0° C, pendant 20min. Chaque tube contient 0.5 ml de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* à 50,100 et 200µg/ml, additionnée d'une solution tampon phosphate (pH=7.4), et de 30µl de la suspension érythrocytaire à 40%. Après incubation des tubes et récupération des surnageant, l'absorbance est mesurée à 540nm. En parallèle, l'acide salicylique (500µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif. Un tube contenant de l'éthanol a été utilisé comme un contrôle négatif.

Tableau n°4 : Mode opératoire du test de la stabilisation membranaire par la chaleur.

Concentrations de l'huile essentielle (µg/ml)	-	50	100	200	-
Acide salicylique (µg/ml)	-	-	-	-	500
Volumes (ml)	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Ethanol (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Solution tampon phosphate (pH=7.4)	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
Volume de la suspension érythrocytaire 40% (µl)	30	30	30	30	30
Chaque tube est préparé en deux exemplaires ; un est incubé à 54° dans un bain Marie et l'autre à 0°, pendant 20min.					
Centrifugation 3min à 1300g					
Récupération du surnageant et lecture de l'absorbance à540nm.					

➤ Calcul du pourcentage d'inhibition

- Le pourcentage d'inhibition ou d'accélération de l'hémolyse, est calculé par l'équation suivante :

$$\text{pourcentage inhibition de l'hémolyse} = 100 \times \left(1 - \frac{DO2 - DO1}{DO2' - DO1'}\right)$$

DO1 : Echantillon à 0°C

DO2 : Echantillon à 54°C.

DO1' : Contrôle négative à 0°C.

DO2' : Contrôle négatif à 54°C.

c. Test d'hémolyse

Le tableau n°5, résume le mode opératoire utilisé dans le test d'hémolyse. Deux séries de tubes ont été utilisées, et traitées par une solution tampon phosphate isotonique (pH=7.4) et l'autre par une solution tampon hypotonique (pH=7.4). Chaque tube contient 0.5 ml de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* à 50,100 et 200µg/ml, additionnée d'une solution tampon phosphate isotonique ou hypotonique (pH=7.4), et de 30µl de la suspension érythrocytaire à 40%. Après incubation des tubes et récupération des surnageant, l'absorbance est mesurée à 540nm. En parallèle, l'acide salicylique (500µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif. Un tube contenant de l'éthanol a été utilisé comme un contrôle négatif.

Tableau n°5 : Mode opératoire du test d'hémolyse.

Concentrations de l'huile essentielle (µg/ml)	-	50	100	200	-
Acide salicylique (µg/ml)	-	-	-	-	500
Volumes (ml)	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Ethanol (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Chaque tube est préparé en deux séries, une est additionnée d'une solution tampon phosphate hypotonique (pH=7,4) et l'autre d'une solution tampon isotonique (pH=7.4)					
Volume de la suspension érythrocytaire 40% (µl)	30	30	30	30	30
Incubation à la température ambiante pendant 10min					
Centrifugation 3min à 1300g					
Récupération du surnageant et lecture de l'absorbance à540nm.					

➤ Calcul du pourcentage d'inhibition

- Le pourcentage d'inhibition ou d'accélération de l'hémolyse, est calculé par l'équation suivante :

$$\text{pourcentage inhibition de l'hémolyse} = 100 \times \left(1 - \frac{DO2 - DO1}{DO2' - DO1'}\right)$$

DO1 : Echantillon traité par la solution isotonique.

DO2 : Echantillon traité par la solution hypotonique.

DO1' : Contrôle négative traité par la solution isotonique.

DO2' : Contrôle négatif traité par la solution hypotonique.

1. Huile essentielle d'*O. vulgare L*

1.1. Le rendement en huile essentielle

L'espèce d'*Origanum vulgare L*, récoltée au niveau de la Wilaya d'Ain Témouchent, contient 3.2% (g/g de plante sèche) de l'huile essentielle, obtenue par hydrodistillation après 1.5h d'extraction. Des études réalisées sur la même espèce, ont montré des rendements plus faibles que le nôtre, 2.21% (g/g) pour l'*O. vulgare L* de la wilaya de Bejaïa (Amrane 2017), et 1.66%(g/g) de celui de la Wilaya de Mostaganem (Kherroub 2018). Dans une autre étude, réalisée sur l'*O.vulgare L* d'Iran ce rendement n'était que de 0,5% (Vazirian et al., 2014).

Le rendement d'une huile essentielle obtenu à partir de la même espèce, peut être différent et dépend de plusieurs facteurs tels que la zone géographique et les conditions climatiques où pousse la plante, de plus le moment de la cueillette et la méthode d'extraction jouent aussi un rôle important (Bessombes,2008).

1.2. Indice physico-chimiques de l'huile essentielle

➤ Les propriétés organoleptiques

Les huiles essentielles, sont responsables des senteurs émises par les plantes aromatiques, elles sont très utilisées dans l'industrie de la cosmétique et de la parfumerie ainsi que dans l'aromathérapie, leur propriétés organoleptiques, peuvent être un indice de leur qualité, dans le tableau n°6, sont indiqués les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* et comparés avec les normes standards donnée par l'AFNOR (Aromathèque 2017).

Tableau n°6 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*.

Propriétés organoleptiques	L'huile essentielle d' <i>O.vulgare L</i>	Norme (AFNOR) (Aromathèque, 2017)
Aspect	Liquide, mobile et limpide	Liquide, mobile et limpide
Couleur	Jaune foncé	Presque incolore à jaune pale
Odeur	Epicé	caractéristique fraîche, plus ou moins mentholée

➤ La densité

La densité est une caractéristique de chaque huile essentielle (**Baser et Buchbauer 2010**), la densité de l'huile essentielle d'*O.vulgare L* est de 0.909, et elle est généralement comprise entre 0.880 et 0.980 (**Aromathèque 2017**),

➤ L'indice de réfraction

L'objectif de la mesure de l'indice de réfraction est de déterminer la pureté d'une huile essentielle, la présence d'impuretés même à faible quantité modifiée considérablement cet indice (**Bernard et al., 2014**). L'*O. vulgare L* a un indice de réfraction de 1.499, qui est dans l'intervalle donné par les normes AFNOR (**Aromathèque 2017**).

2. Les activités biologiques d'*O.vulgare L*

2.1. L'activité antioxydante (*in vitro*)

Les résultats de l'activité anti-oxydante d'huile essentielle d'*O.vulgare L* et de l'acide ascorbique, exprimés en pourcentage d'inhibition ainsi que les valeurs d'IC₅₀, calculées sont présentées dans le tableau n°7.

Tableau n°7 : Activité antioxydante d'*O. vulgare L*, exprimée en pourcentage d'inhibition et en IC₅₀.

	La concentration µg/ml	L'activité antioxydante (%d'inhibition)	IC ₅₀ (µg/ml)
A. Ascorbique	1	29.83	2.34
	4	72.34	
	10	90.39	
L'huile essentielle d'<i>O.vulgare L</i>	100	9.86	468.55
	400	39.98	
	700	68.96	
	1000	81.57	

Les résultats obtenus illustrent l'efficacité de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* à piéger le radical DPPH. La concentration inhibitrice à 50% est de 468.55µg/ml, et elle est supérieure à celle de l'antioxydant naturel, l'acide ascorbique qui est de 2.34µg/ml. Cela veut dire que l'huile essentielle d'*O. vulgare L* possède une activité anti-oxydante moins importante que

Résultats et discussions

celle de l'acide ascorbique. Les graphes suivants représentent le piégeage du DPPH par l'acide ascorbique (figure n°7) et par l'huile essentielle d'*O. vulgare L* (figure n°8).

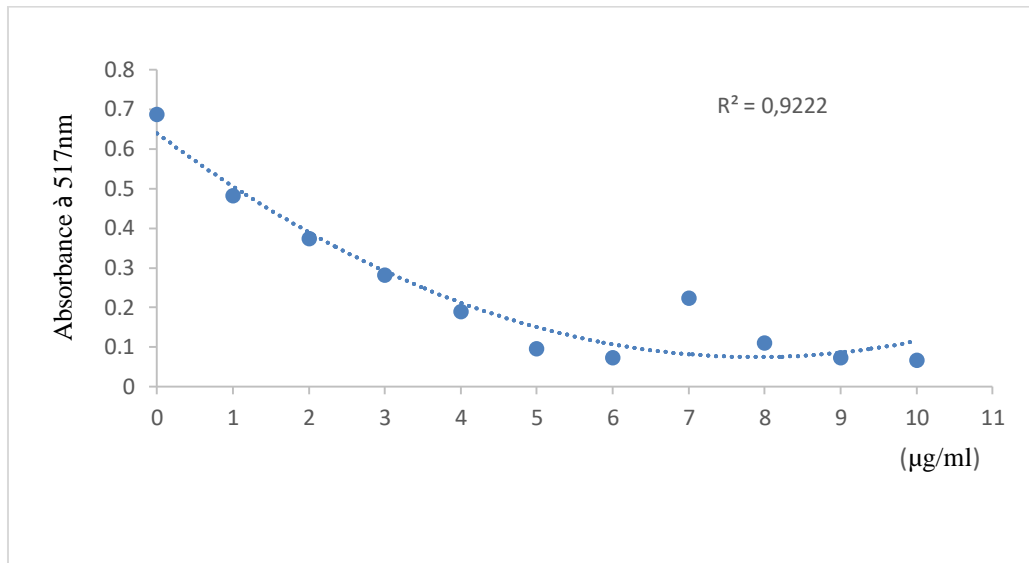


Figure n°7 : Piégeage du DPPH par l'acide ascorbique.

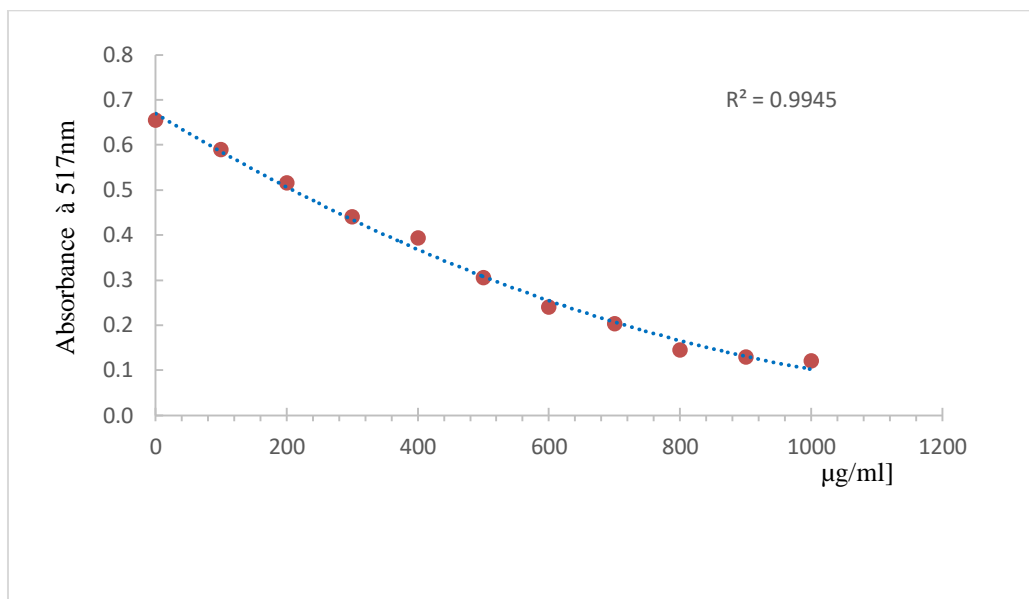


Figure n°8 : Piégeage du DPPH par l'huile essentielle d'*O. vulgare L*.

Des études réalisées sur l'huile essentielle d'*O. vulgare L*, montrent des IC_{50} plus importantes que celle calculée dans notre étude, 890 µg/ml pour l'espèce de l'Anatolie orientale en Turquie (Sahin et al., 2004), ce résultat indique ainsi un pouvoir réducteur du DPPH relativement faible par rapport à celui de notre plante, ainsi que le test réalisé par Bernaoui.Louetri (2018.) qui a donné un résultat d'une $IC_{50} = 1300$ µg/ml, par contre une

activité antioxydante plus grande a été trouvée dans le travail d'Ounaissia (2015) caractérisée par une IC₅₀ de seulement 21.33µg/ml.

Il a été montré, que l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* est liée à leurs composés chimiques volatils libres, notamment le carvacrol et le thymol (Radonic et Milos 2003). Ces composés phénoliques ont un fort pouvoir antiradicalaire, dû à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donneurs d'hydrogène et agents d'extinction de l'oxygène singulet (Parejo et al., 2002).

2.2. L'activité anti-inflammatoire (*in vitro*)

Pour tester l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*, nous avons traité les globules rouges par la chaleur et par une solution hypotonique, les deux procédés provoquent l'hémolyse, la présence de molécules anti-hémolytiques peut prévenir cette hémolyse. L'acide salicylique est utilisé comme un anti-inflammatoire de référence. Les résultats sont montrés dans le tableau n°8.

Tableau n°8 : Effet de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*, contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induite dans la chaleur et dans la solution hypotonique.

Traitement	Concentrations (µg/ml)	Inhibition de l'hémolyse (%)	
		Chaleur	Solution hypotonique
L'huile essentielle d' <i>O. vulgare L</i>	50	64.43±13.04	28,42±0.47
	100	33.08±17.11	36.63±13.10
	200	22.33±5.34	64.60±28.60
Acide salicylique	500	63.11±5.47	51.83±6.54

D'après les résultats de l'activité anti-inflammatoire induite dans la chaleur, l'huile essentielle d'*O.vulgare L* présente un pourcentage d'inhibition de l'hémolyse égal à 64.43±13.04% à une concentration de 50µg/ml, cet effet est similaire à celui de l'acide salicylique utilisé à 500 µg/ml. D'autre part on a observé qu'aux concentrations en huile essentielle de 100 et 200µg/ml, le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est de 33.08±17.11% et 22.33±5.34% respectivement, et il est ainsi plus bas que celui observé à la concentration de 50 µg/ml.

Résultats et discussions

D'autres part, le même résultat a été obtenu avec une étude réalisée avec l'*O. vulgare L* et qui a montré que l'effet hémolytique est proportionnellement lié avec la concentration de l'huile essentielle (**Amrane 2017**).

Il a été démontré que le pouvoir anti-hémolytique d'*O. vulgare L* peut être inversement lié à la concentration en huile essentielle ceci a été expliqué par la présence du thymol et du carvacrol, qui, à forte concentration, interagissent avec les acides gras polyinsaturés provoquant une perturbation de la membrane cellulaire des globules rouges (**Di Pasqua et al., 2007**). De plus, le thymol est bien connu pour son effet toxique à forte concentration (**Bullangpoti et al., 2018**).

Pour la deuxième expérience, dans laquelle des globules rouges ont été traités dans une solution hypotonique, en présence de différentes concentrations en huile essentielle, on a observé que le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est proportionnellement lié avec la concentration, on a trouvé $28,42 \pm 0.47\%$, $36.63 \pm 13.10\%$ et $64.60 \pm 28.60\%$ aux concentrations de $50 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{g/ml}$ et $200 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Plusieurs mécanismes d'action de l'activité anti-hémolytique de l'huile essentielle d'*O. vulgare L*, ont été proposés, comme l'inhibition de la peroxydation des lipides (**Jamuna et al., 2017**), la modification de l'afflux de calcium dans les érythrocytes (**Shinde et al., 1999**) et la dissipation de la force proton-motrice induite par l'inhibition de l'ATPase (**Gill et Holley 2006**).

Conclusion et perspectives

Le présent travail a pour but d'établir une contribution à la valorisation de la plante d'*Origanum vulgare L* qui est très utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ses propriétés thérapeutiques en établissant une relation entre ses compositions chimiques et ses activités biologiques.

Nous avons étudié la plante d'*O. vulgare L*, dans un premier temps, nous avons procédé à l'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne, et qui a fourni un rendement important.

L'évaluation de ses activités biologiques a prouvé que l'huile essentielle d'*O. vulgare L* possède un pouvoir anti-radicalaire contre le DPPH très puissant, ainsi qu'une activité anti-hémolytique élevée a été marquée avec une faible concentration de l'huile essentielle.

En perspective, il serait nécessaire de signaler la partie aérienne d'*O. vulgare L* comme étant une bonne source d'huile essentielle. Ce modeste travail n'est qu'une ébauche qui s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles substances d'origine naturelle biologiquement active. Il est donc intéressant de poursuivre ces travaux en mettant en valeur l'action synergique et l'efficacité de l'huile essentielle d'*O. vulgare L* dans les luttes contre l'inflammation et toutes espèces oxydantes.

Références bibliographiques

- Amrane.H, B. M. (2017). Recherche des extraits végétaux à activité Anti-hémolytique. Département de Biologie Physico - Chimique. Algérie, Université A. MIRA - Bejaia.
- Aromathèque (2017). "MONOGRAPHIE HUILE ESSENTIELLE Origanum vulgare."from<https://www.myrtea.formations.com/index.php?mod=aromatheque&rubrique=HE&act=fiche&ind=53>.
- Ashley, N. T., Z. M. Weil, et al. (2012). "Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation." *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43: 385-406.
- Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *Ed Librairie moderne Rouiba*, 46.
- Bakkali, F., S. Averbeck, et al. (2008). "Biological effects of essential oils—a review." *Food and Chemical Toxicology* 46(2): 446-475.
- Barnes, P. J. (1998). "Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms." *Clinical science* 94(6): 557-572.
- Baser, K. H. C. and G. Buchbauer (2015). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton CRC press.
- Bellakhdar, J. (1997). "La pharmacopée marocaine traditionnelle."
- Bernaoui.Louetri, Y. K. (2018.). Caractérisation phytochimique du Genre Origanum et leur bioactivités. *biologie Cellulaire et Moléculaire*. Algérie., Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED.: 86.
- Bernard, A. S., S. Clède, et al. (2014). *Techniques expérimentales en Chimie - 2e éd.: Réussir les TP aux concours*. Paris:, Dunod.
- Besombes, C. (2008). Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *UFR des SCIENCES: UNIVERSITÉ de La Rochelle*.
- Binov L., 2001. Oxydants/antioxydants : un équilibre important. 68: 53-62.
- Bruneton, J. (1999). "Pharmacognosie." *Phytochimie. Plantes médicinales*, Paris, Ed. Tec-Doc.
- Buettner, G. R. (1993). "The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate." *Archives of biochemistry and biophysics* 300(2): 535-543.
- Butterfield, D. A. and C. M. Lauderback (2002). "Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving

Références bibliographiques

amyloid β -peptide-associated free radical oxidative stress." *Free Radical Biology and Medicine* 32(11): 1050-1060.

- Caillaud, M.-A. (2013). étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. UFR sciences pharmaceutiques et biologiques. France., université de Nantes: 126.
- Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques, Ed. Yves Dacosta.
- Diallo, A. (2005). "Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd.(Myrtaceae)." PhD. of the University Bamako, Mali: 38-47.
- Dupin, H., J. Abraham, et al. (1992). Apports nutritionnels conseillés pour la population française, Editions Tec & Doc.
- Edris, A. E. (2007). "Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review." *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 21(4): 308-323.
- Favier, A. (2003). "Le stress oxydant." *L'actualité chimique* 108.
- Feehan, K. T. and D. W. Gilroy (2019). "Is Resolution the End of Inflammation?" *Trends in molecular medicine*.
- Figueredo, G. (2012). Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne *Chimie organique*. France, Université Blaise Pascal.
- Gardès-Albert, M., D. Bonnefont-Rousselot, et al. (2003). "Espèces réactives de l'oxygène." *L'actualité chimique*: 91.
- Gardner, P. R. (1997). Superoxide-driven aconitase FE-S center cycling. *Bioscience reports*, 17(1), 33-42.
- Garnier, J., G. Le Moël, et al. (2005). "Actualités en pharmacologie et biologie cliniques 13e série-Pathologies cardiaques et vasculaires."
- Gill, A. and R. Holley (2006). "Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics." *International journal of food microbiology* 108(1): 1-9.
- Goust, J. (1999). "Basilic, marjolaine et origan." *Actes Sud*.
- Govindarajan, R., M. Vijayakumar, et al. (2005). "Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana'herbs of Ayurveda." *Journal of ethnopharmacology* 99(2): 165-178.

Références bibliographiques

- Guignard, J. (1996). Abrégés en botanique. 10e éd, Masson, Paris.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants: the basics-what they are and how to evaluate them. *Advances in pharmacology*, Elsevier. 38: 3-20.
- Han, X. and T. L. Parker (2017). "Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model." *Biochimie open* 4: 73-77.
- Henzen, C. (2003). Traitement aux glucocorticoïdes: risques et effets secondaires. Forum médical suisse, EMH Media.
- Huang, D., B. Ou, et al. (2005). "The chemistry behind antioxidant capacity assays." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6): 1841-1856.
- Hübert, T., C. Tiebe, et al. (2016). Electronic Noses for the Quality Control of Spices. *Electronic Noses and Tongues in Food Science*, Elsevier: 115-124.
- Jamuna, S., S. Sadullah, et al. (2017). "Potential antioxidant and cytoprotective effects of essential oil extracted from *Cymbopogon citratus* on OxLDL and H₂O₂ LDL induced Human Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC)." *Food Science and Human Wellness* 6(2): 60-69.
- Jean Dubois, H. M., Albert Dauzat (2006). Dictionnaire étymologique et historique du français. É. Larousse.
- Jukić, M. and M. Miloš (2005). "Catalytic oxidation and antioxidant properties of thyme essential oils (*Thymus vulgaris* L.)." *Croatica chemica acta* 78(1): 105-110.
- Kechar, B., Bahnes, N., & Haffaf, H. (2016). Cooperation between Intelligent Autonomous Vehicles to enhance container terminal operations. *Journal of Innovation in Digital Ecosystems*, 3(1), 22-29.
- Kherroub, N. (2018). Le pouvoir insecticide de l'extrait et huile essentielle d'*Origanum vulgare* vis-à-vis de pucerons d'agrumes. Département d'Agronomie. Algérie, Université Abdelhamid ibn Badis Mostaganem.
- Kintzios, S. E. (2002). "Profile of the multifaceted prince of the herbs." *Oregano: the genera Origanum and Lippia*: 3-10.
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). "Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires." *Nutrition clinique et métabolisme* 20(4): 165-177.
- Kumar, V. (2019). "Inflammation research sails through the sea of immunology to reach immunometabolism." *International immunopharmacology* 73: 128-145.

Références bibliographiques

- Lin, C. C. S., & Fung, D. Y. C. (1983). Effect of BHA, BHT, TBHQ and PG on growth and toxigenesis of selected Aspergilli. *Journal of Food Science*, 48(2), 576-580.
- M. Musthaba, S. B., T.M.D. Athar, K.Y. Thajudeen, S. Ahmed, J. Ali (2010). "Patented herbal formulations and their therapeutic applications." *Recent Pat. Drug Deliv. Formul*: pp. 231-244.
- Medzhitov, R. (2008). "Origin and physiological roles of inflammation. ." *Nature*. Vol.454: pp. 428-435.
- Misra, K., G. S. Dhillon, et al. (2014). *Antioxidants. Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*, Springer: 117-138.
- Mohammedi, Z. (2006). "Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen." *Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen*. 105p.
- Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26(2): 211-219.
- Moore, N., M. Duong, et al. (2019). "Pharmacoepidemiology of non-steroidal anti-inflammatory drugs." *Therapies* 74(2): 271-277.
- N. Aligiannis, E. K., S. Mitaku, I.B. Chinou (2001). "Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species." *J. Agric. Food Chem*: pp. 4168-4170.
- Ounaïssia, S. G. N. (2015). *Contribution à l'étude d'activités antioxydante et antiinflammatoire de certaines huiles essentielles. DEPARTEMENT DE BIOLOGIE. Algérie, UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA*.
- Parejo, I., F. Viladomat, et al. (2002). "Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(23): 6882-6890.
- Pincemail, J., K. Bonjean, et al. (2002). "Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante." *Nutrition clinique et métabolisme* 16(4): 233-239.
- Quezel, P., S. Santa, et al. (1962). "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales-v. 1-2."
- Radonic, A. and M. Milos (2003). "Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L." *Free Radical Research* 37(6): 673-679.

Références bibliographiques

- Rasch, S. and H. Algül (2014). "A clinical perspective on the role of chronic inflammation in gastrointestinal cancer." *Clinical and experimental gastroenterology* 7: 261.
- Sahin, F., M. C. Güllüce, et al. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey.
- Sandilands, E. A. and D. N. Bateman (2016). "Non-steroidal anti-inflammatory drugs." *Medicine* 44(3): 185-186.
- Serhan, C. N. and J. Savill (2005). "Resolution of inflammation: the beginning programs the end." *Nature immunology* 6(12): 1191.
- Shinde, U., A. Phadke, et al. (1999). "Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil." *Fitoterapia* 70(3): 251-257.
- Shobana, S. and R. Vidhya (2016). "Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of *Abutilon indicum* (linn.)." *World J Pharm Pharm Sci* 5: 1182-1196.
- Smirnoff, N. (2005). *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*, Wiley Online Library.
- Soltani, J. (2016). *Secondary metabolite diversity of the genus Aspergillus: recent advances. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier: 275-292.
- Svoboda, K. P. and J. B. Hampson (1999). "Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities." *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW* 16: 1-7.
- Teixeira, M. R., N. Pandis, et al. (2002). "Cytogenetic clues to breast carcinogenesis." *Genes, Chromosomes and Cancer* 33(1): 1-16.
- Teuscher Eberhard, A. R., Lobstein Annelise (2004). *Plantes aromatiques: Epices, aromates, condiments et huiles essentielles*.
- Tremblin, M. (2016). *Abrégé de biochimie appliquée - 2e édition*. France EDP Sciences.
- Vazirian, M., M. Mohammadi, et al. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* essential oil from Iran.

Références bibliographiques

- Yougbaré-Ziérou, M., N. Ouédraogo, et al. (2016). "Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae)." *Phytothérapie* 14(4): 213-219.

Résumé

L'étude a été conçue pour évaluer *in vitro* l'activité anti-oxydante et anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare L* appartenant à la famille des lamiacées.

L'activité anti-oxydante a été réalisée par le piégeage du radical libre le DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl), indique que l'huile essentielle d'*O.vulgare L* a un pouvoir anti-radicalaire très important. D'autre part, un test anti-inflammatoire a été réalisé par le protocole de la stabilisation de la membrane des globules rouges, et qui a montré que l'huile essentielle possède une activité anti-inflammatoire très puissante similaire à celle de l'acide salicylique qui est un anti-inflammatoire de référence.

Mots-clés : *Origanum vulgare L*, huile essentielle, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Summary

The study was designed to evaluate *in vitro* the anti-oxidant and anti-inflammatory activity of *Origanum vulgare L* essential oil belonging to the family of Lamiaceae.

The antioxidant activity was carried out by trapping the free radical DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl), indicates that the essential oil of *O.vulgare L* has a very important anti-radical power. In addition, an anti-inflammatory test was carried out by the protocol of the stabilization of the red blood cell membrane, which showed that the essential oil has an important anti-inflammatory activity similar to that of salicylic acid, which is a reference molecule.

Keywords: *Origanum vulgare L*, essential oil, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

المخلص

أنجزت الدراسة لتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للالتهابات في المختبر للزيت الأساسي للعشبة

Origanum vulgare L التي تنتمي إلى عائلة Lamiaceae .

تم اجراء نشاط مضادات الأكسدة عن طريق محاصرة الجذور الحرة 2 ، DPPH (2 ثنائي فينيل -1 بيكريل

هيدرازيل) ، مما يشير إلى أن الزيت الأساسي لـ *O.vulgare L* له قوة مضادة للاكسدة. من ناحية أخرى ، تم إجراء اختبار مضاد للالتهابات عن طريق بروتوكول تثبيت غشاء خلايا الدم الحمراء ، والذي أظهر أن الزيت الاساسي له نشاط مضاد للالتهابات قوي للغاية مماثل لنشاط حمض الساليسيليك، الذي يعتبر كمرجع مضاد للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: *Origanum vulgare L*، الزيت الاساسي، النشاط المضاد للاكسدة، النشاط المضاد للالتهابات.