

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique



# Mémoire de Master

**Filière:** Sciences biologiques

**Option:** Biochimie et Biologie Moléculaire

## Thème

---

**Evaluation *in-vitro* des activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* seules et en combinaison**

---

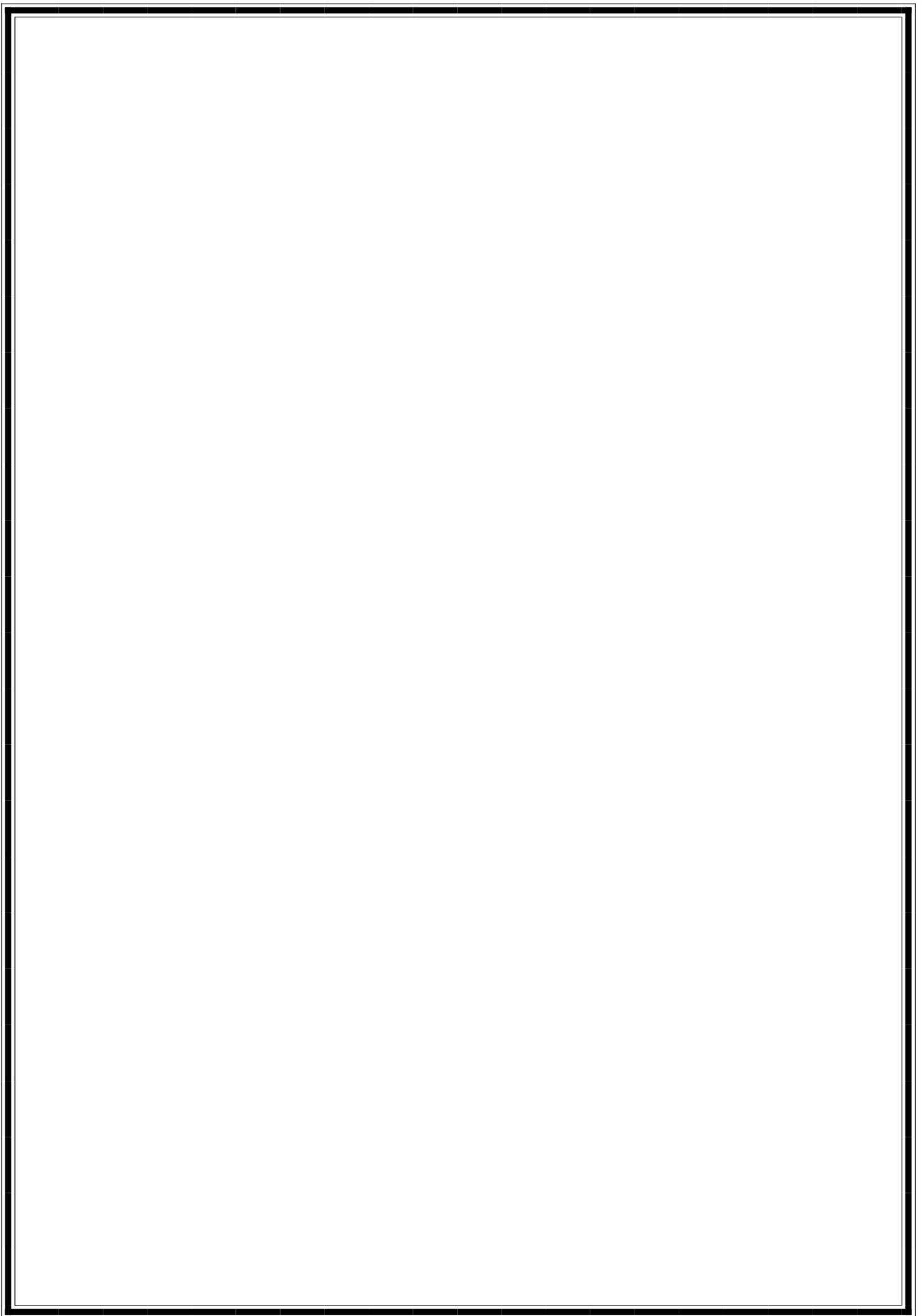
Présenté par :

**LANSEUR Radia**

**Devant le jury :**

M <sup>me</sup> DAHDOUH A	MAB	Présidente
M <sup>me</sup> CHERAFT-BAHLOUL N	MAA	Examinatrice
M <sup>f</sup> BASLI A	MCA	Encadreur

Année universitaire : 2016/2017



# *Remerciements*

*Je tiens à remercier le Dieu de m'avoir donné le courage et la patience afin que ce travail puisse voir le jour.*

*Mes remerciements sont adressés à :*

*Mon promoteur, Monsieur BASLI, pour sa précieuse recommandation, ses conseils et son orientation.*

*Je remercie également les membres du jury*

*M<sup>me</sup> DAHDOUH A., et M<sup>me</sup> CHERAFT-BAHLOUL N  
d'avoir consacré leur temps à la lecture de ce manuscrit, et d'accepter de juger et d'évaluer ce travail*

*Enfin je tiens à exprimer mes profonds remerciements à tous ceux qui m'en soutenu de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

# Dédicace

*A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, à celle qui a sue me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard, ma mère que j'aime.*

*A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon père que j'aime.*

*A ceux qui m'ont aidé et m'ont donné joie et bonheur :*

*Mes sœurs Daouia, Ghania, Hadjila, Hakima, Malika, Souhila et Chahra.*

*Mes Frères Saadi, Hamza et mon cher Sassi qui me manque beaucoup.*

*A mes neveux et mes nièces que j'adore beaucoup.*

*A mes oncles et leurs familles.*

*A mes tantes et leurs familles.*

*A mes amis les plus fidèles en particulier Chérif, Ahmed, Yamina, Ouarda.*

*A toute la promo Biochimie et Biologie moléculaire.*

*A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma vie.*

*A tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment, je dédie ce modeste travail.*

**Radia**



## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**AO** : Antioxydant

**BHA**: Butyl hydroxy anisole

**BHT**: Butyl hydroxy toluène

**COX 1** : Cyclooxygénase 1

**COX 2** : Cyclooxygénase 2

**GC/MS** : Chromatographique en phase gazeuse couplée au spectroscopie de masse

**HE** : Huile essentielle

**HSA** : Human Sérum Albumin

**IC<sub>50</sub>** : Inhibitory concentration<sub>50</sub>

**ICAM** : Inter cellular adhesion molecule

**MEC** : Matrice extra-cellulaire

**PAM** : Plantes aromatiques médicinales

**PAMPs** : Pathogen-associated molecular pattern, molécules

**GB** : Globules rouges

**ERO** : Espèces réactives oxygénées

**ERN** : Espèces réactives d'azote

**ERS** : Espèces réactives de soufre

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Photographie de <i>R.officinalis</i> .....	6
<b>Figure 02</b> : Les structures chimiques des principaux composants antioxydants présents dans les feuilles de romarin .....	7
<b>Figure 03</b> : Les structures chimiques des composants de l'huile essentielle du romarin. ....	8
<b>Figure 04</b> : Photographie d' <i>O.glandulosum</i> .....	8
<b>Figure 05</b> : Feuilles des plantes après séchage .....	14
<b>Figure 06</b> : Dispositif d'hydrodistillation utilisé à l'échelle du laboratoire. ....	15
<b>Figure 07</b> : Réaction entre le radical DPPH et un antioxydant .....	16
<b>Figure 08</b> : Protocole de réduction de radical DPPH .....	17
<b>Figure 09</b> : Protocole de détermination du pouvoir réducteur .....	20
<b>Figure 10</b> : Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine .....	22
<b>Figure 11</b> : Protocole de stabilisation membranaire .....	24
<b>Figure 12</b> : Rendement en huile essentielle d' <i>O.glandulosum</i> et <i>R.officinalis</i> .....	25
<b>Figure 13</b> : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des HEs analysées .....	28
<b>Figure 14</b> : Mesure du pouvoir réducteur des HEs analysées .....	30
<b>Figure 15</b> : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine des HEs analysées. ....	33
<b>Figure 16</b> : Pourcentages d'inhibition de l'hémolyse hypotonique des HEs analysées... ..	35

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Composants principaux de l'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	7
<b>Tableau II :</b> Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>O.glandulosum</i> .....	9
<b>Tableau III :</b> Masse volumique des HEs d' <i>O.glandulosum</i> et <i>R.officinalis</i> . .....	26
<b>Tableau IV :</b> IC <sub>50</sub> du standard et des HEs d' <i>O.glandulosum</i> et <i>R.officinalis</i> .....	28
<b>Tableau V:</b> Absorbance des HEs analysées à 700 nm.....	31
<b>Tableau VI:</b> Absorbance du standard à 700 nm. ....	31
<b>Tableau VII :</b> IC <sub>50</sub> du standard et des HEs d' <i>O.glandulosum</i> et <i>R.officinalis</i> .....	33
<b>Tableau VIII :</b> IC <sub>50</sub> du standard et des HEs d' <i>O.glandulosum</i> et <i>R.officinalis</i> .....	36

# SOMMAIRE

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

Introduction .....	1
--------------------	---

## CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>I.1. Huiles essentielles</b> .....	2
I.1.1. Définition .....	2
I.1.2. Répartition et localisation .....	2
I.1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	3
I.1.4. Composition chimique et biosynthèse des huiles essentielles .....	3
I.1.4. Facteurs affectant la variabilité de la composition des huiles essentielles.....	4
I.1.5. Toxicité des huiles essentielles .....	4
<b>I.2. Plantes médicinales</b> .....	5
I.2.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	5
I.2.1.1. Description botanique .....	5
I.2.1.2. Classification botanique .....	6
I.2.1.3. Utilisation traditionnelle.....	6
I.2.1.4. Composition chimique de l'huile essentielle .....	7
I.2.2. <i>Origanum glandulosum</i> .....	8
I.2.2.1. Description botanique .....	8
I.2.2.2. Classification botanique .....	8
I.2.2.3. Utilisation traditionnelle.....	9
I.2.2.4. Composition chimique de l'huile essentielle .....	9
<b>I.3. Activités biologiques</b> .....	10
I.3.1. Activité antioxydante .....	10
I.3.1.1. Radicaux libres et stress oxydatif.....	10
I.3.1.2. Antioxydants .....	10
I.3.1.3. Mode d'action d'un antioxydant .....	11
I.3.1.4. Types d'antioxydants .....	11
I.3.2. Activité anti-inflammatoire .....	12
I.3.2.1. Réponse inflammatoire .....	12

I.3.2.2.	Aspects biologiques de l'inflammation.....	12
I.3.2.3.	Inducteurs de l'inflammation .....	13
I.3.2.4.	Mécanisme d'action des anti-inflammatoires .....	13

## **CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES**

<b>II.1.</b>	<b>Matériel végétal .....</b>	<b>14</b>
II.1.1.	Récolte des plantes.....	14
II.1.2.	Séchage .....	14
II.1.3.	Broyage .....	14
<b>II.2.</b>	<b>Huiles essentielles.....</b>	<b>15</b>
II.2.1.	Procédé d'extraction .....	15
II.2.2.	Calcul du rendement .....	15
<b>II.3.</b>	<b>Evaluation <i>in-vitro</i> de l'activité antioxydante .....</b>	<b>16</b>
II.3.1.	Effet scavenger du radical DPPH .....	16
II.3.2.	Test du pouvoir réducteur .....	18
<b>II.4.</b>	<b>Evaluation <i>in-vitro</i> de l'activité anti-inflammatoire.....</b>	<b>21</b>
II.4.1.	Inhibition de la dénaturation protéique .....	21
II.4.2.	Evaluation de la protection contre l'hémolyse.....	23
<b>II.5</b>	<b>Etude statistique .....</b>	<b>24</b>

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>III.1.</b>	<b>Rendement en huile essentielle .....</b>	<b>25</b>
<b>III.2.</b>	<b>Détermination de la masse volumique des huiles essentielles .....</b>	<b>26</b>
<b>III.3.</b>	<b>Evaluation de l'activité antioxydante.....</b>	<b>27</b>
III.3.1	Activité scavenger du radical DPPH .....	27
III.3.2	Mesure du pouvoir réducteur .....	30
<b>III.4.</b>	<b>Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....</b>	<b>32</b>
III.4.1	Effet sur la dénaturation protéique .....	32
III.4.1	Stabilisation membranaire .....	35
	<b>Conclusion .....</b>	<b>37</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>38</b>
	<b>Annexes</b>	



# *INTRODUCTION*



Depuis longtemps, la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses d'origine naturelle repose sur les plantes médicinales et sur les études ethnobotaniques qui permettent de réaliser des inventaires de plantes d'une région, en déterminant leur qualité par des études phytochimiques et pharmacologiques (**Muanda et al., 2009**).

De ce fait, la valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays (**Aboughe Angone et al., 2015**). L'Algérie, pays connu pour ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. Environ 3 000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques (**Dif et al., 2015**).

Les différentes substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples dans le système de soins traditionnels et dans les différentes industries comme l'alimentation, la cosmétologie et en dermopharmacie (**Hebi et al., 2016**). Parmi ces substances, les métabolites secondaires comme les huiles essentielles qui se sont surtout illustrées en thérapeutique (**Mechergui et al., 2016**).

Quant à leur possible effet contre certaines maladies, les huiles essentielles ont été largement étudiées pour leurs activités biologiques et constituent également un axe important pour les chercheurs (**Djerrad et al., 2015**).

Par ailleurs, les genres qui sont capables de les élaborer sont rassemblés dans un nombre restreint de familles comme les : *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Asteraceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae*, *Cupressaceae*, *Piperaceae* (**Mahendra et al., 2017**).

La famille des *Lamiaceae*, est l'une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels. Les espèces de cette famille sont réputées actives grâce aux composés bioactifs qu'elles ferment (**Kechar et al., 2016**).

C'est dans ce contexte que la présente étude a été menée et qui consiste sur :

- L'extraction des huiles essentielles de deux labiées *Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis*.
- L'évaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de ces huiles essentielles seules et en combinaison.



*SYNTHESE*  
*BIBLIOGRAPHIQUE*



## I.1. Huiles essentielles

### I.1.1. Définition

Selon AFNOR (Association Française de Normalisation) : « ce sont des produits obtenus à partir de matières premières d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation et qui sont ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**Bruneton *et al.*, 1999**).

Pour certains auteurs, il est important de distinguer huile essentielle et essence (**Carette *et al.*, 2000**) :

- **Essence** : sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée.
- **Huile essentielle** : est un extrait naturel de matières premières d'origine végétale, obtenu par distillation par la vapeur d'eau, c'est-à-dire que l'huile essentielle est l'essence distillée.

### I.1.2. Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (**Khia *et al.*, 2014**). Leur composition chimique est d'une grande complexité, ce qui les rend spécifiques car chaque huile essentielle regroupe en réalité plusieurs substances aromatiques très élaborées et très différentes. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans toutes les parties de la plante (fleurs, feuilles, fruits, graines, écorces, tiges, etc) avec une quantité plus importante au niveau des parties supérieures (fleurs et feuilles) (**Aboughe Angone *et al.*, 2015**).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule (**Teucher *et al.*, 2003**).

L'accumulation de ces métabolites secondaires, se fait généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante telle que les poils sécrétrices, les poches sécrétrices et les canaux sécrétrices pour les Astéracées (**Teucher *et al.*, 2003**).

### I.1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse et al., 2008**). Elles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (**Couic-Marinier et al., 2013**).

Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé (**Desmares et al., 2008**). Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de romarin. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation ; Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité (**Couic-Marinier et al., 2013**).

### I.1.4. Composition chimique et biosynthèse des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les composés terpéniques tels que les monoterpènes et terpènes sesquiterpéniques ; et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents comme l'alcool cinnamique. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils comme les acides, alcools, aldéhydes, esters, etc) (**Bakkali et al., 2008 ; Couic-Marinier et al., 2013**).

La biosynthèse des constituants de ces huiles essentielles emprunte deux voies utilisant comme intermédiaires soit l'acide mévalonique, soit l'acide shikimique respectivement pour les terpenoïdes et les phénylpropanoïdes (**Singh et al., 1990**).

#### I.1.4. Facteurs affectant la variabilité de la composition des huiles essentielles

Les activités biologiques à large spectre des huiles essentielles pourraient être attribuées à la complexité et à la variabilité de leur composition chimique qui sont influencées par de nombreux facteurs (**Mahendra et al., 2017**).

Divers travaux ont démontré que le contenu de l'huile essentielle peut changer en fonction des différences de culture, d'origine, de stade végétatif mais également de facteurs environnementaux comme la température, la pression atmosphérique, la vitesse du vent, l'augmentation des précipitations et l'altitude (**Djerrad et al., 2015**).

Ces facteurs influent sur la croissance de la plante (**Korner, 2007**), la physiologie et la morphologie des plantes, l'écologie des gènes et les tendances des organes qui dans le sens chimique, conduisent à la différenciation entre les espèces (**Reisch et al., 2005**).

En outre, d'autres études ont révélé une grande variabilité dans la composition chimique des huiles essentielles, qui était principalement corrélée à la variation géographique, conditions environnementales et agronomiques (**Moghtader et al., 2009**), temps de récolte et méthodes d'extractions (**Djouahri et al., 2013**).

#### I.1.5. Toxicité des huiles essentielles

Comme pour un médicament, il existe pour chaque huile essentielle un équilibre entre le bénéfique et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet. L'application cutanée, des HEs contenant des furocoumarines et pyrocoumarines (huile de *Citrus*) ou même leur prise par voie orale, peut provoquer sous l'effet prolongé du soleil, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse (**Bakkali et al., 2008**).

Aussi, l'absorption orale des HEs riches en monoterpènes sur de longues périodes peut enflammer et détériorer à terme, les néphrons (les unités fonctionnelles du rein). C'est ce que l'on nomme une néphrotoxicité (**Cuic Marinier et al., 2013**).

De plus l'usage des HEs en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voir photosensibilisation. C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette (huiles riches en thymol ou en carvacrol) qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif (**Bakkali et al., 2008**).



## I.2. Plantes médicinales

Ces dernières années, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont suscité beaucoup d'intérêt dans le domaine thérapeutique. En effet, les substances naturelles extraites de ces plantes ont permis de grandes avancées en raison de leur valeur ajoutée dans la préparation de nombreux produits (Amarti *et al.*, 2011).

Par ailleurs le continent africain est doté de la plus riche biodiversité dans le monde, avec beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et à des fins thérapeutiques (Khia *et al.*, 2014).

Les *Lamiaceae* (*Labiatae*) comprennent environ 260 genres et 7000 espèces largement distribuées dans la région méditerranéenne (Mechergui *et al.*, 2010). Le genre *Origanum* est l'une des plantes économiquement importantes de cette famille (Giani *et al.*, 2007) ; ainsi que le genre *Rosmarinus* qu'est caractérisé par une vaste diversité morphologique et chimique (Bellumori *et al.*, 2016).

### I.2.1. *Rosmarinus officinalis*

#### I.2.1.1. Description botanique

*Rosmarinus officinalis* (Figure 01), communément appelé romarin appartient à la famille des lamiacées ; c'est une plante très connue dans les pays occidentaux, très cultivé dans les régions méditerranéenne (Wollinger *et al.*, 2016) et qui possède les caractéristiques suivantes (Bellakhdar., 2006) :

- Arbrisseau aromatique touffu, rameux, d'environ 1m de hauteur, à tiges ligneuses.
- Feuilles pouvant atteindre 3cm de long et 4mm de large, sont étroitement lancéolées, acaules, et friables ; le bord est involuté vers le bas (rangée supérieure). Les jeunes feuilles sont pubescentes sur la face supérieure, alors que les plus âgées sont glabres. Elles sont ridées et striées en raison d'une nervure médiane enfoncée.
- Fleurs apparaissant dès janvier ; groupées en grappes axillaires et terminales dans la partie supérieure des rameaux.
- Ces inflorescences spiciformes portent en toute saison des fleurs subsessiles.
- Le fruit est un akène brun.

### I.2.1.2. Classification botanique

Cette classification est faite selon (Gaussen *et al.*, 1982)

Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermaphytes
Sous- embranchement :	Angiospermes
Classe :	Décotylédone
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae, labiées
Genre :	<i>Rosmarinus</i>
Espèce :	<i>Rosmarinus officinalis</i>



**Figure 01** : Photographie de *R.officinalis*  
(Ayadi *et al.*, 2011)

### I.2.1.3. Utilisation traditionnelle

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une source très riche de phénols bioactifs qui sont principalement responsables de la bioactivité de la plante ; la raison de son utilisation dans la médecine traditionnelle pendant des siècles (Ribeiro-Santos *et al.*, 2015).

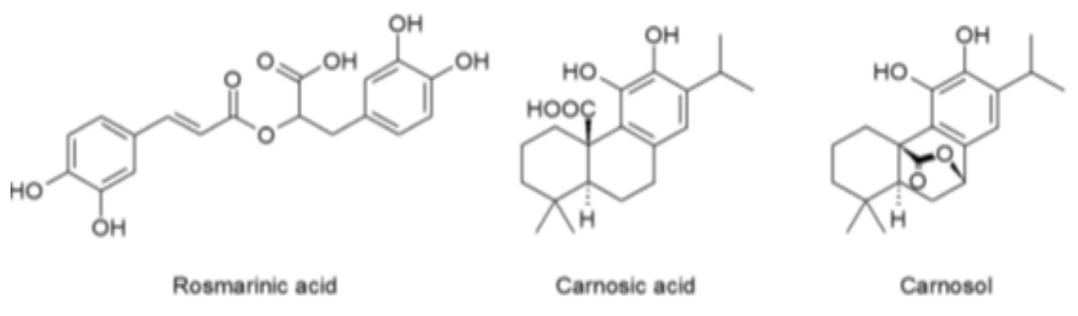
Les extraits du romarin sont utilisés dans un large éventail d'applications, y compris la conservation des aliments et les produits cosmétiques (Lee *et al.*, 2011).

*R. officinalis*, largement trouvé dans les pays de la Méditerranée occidentale, est bien connu pour ses nombreuses utilisations dans la cuisine et ses propriétés pharmacologiques. L'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de la plante sont également utilisées pour préparer des extraits phénoliques qui sont des remèdes naturels pour un certain nombre de maladies courantes (Bellumori *et al.*, 2016).

Les constituants antioxydants les plus importants de cette espèce végétale sont l'acide carnosique, l'acide caféique et ses dérivés tels que l'acide rosmarinique (Figure 02), qui ont une activité antioxydante puissante (Moreno *et al.*, 2006).

Plusieurs activités biologiques ont été décrites pour l'acide rosmarinique comme antioxydant, antiviral, antibactérien et antimutagène (Osakabe *et al.*, 2004). Récemment, il a été signalé que ce composé pourrait être un agent thérapeutique dans le traitement de la

maladie d'Alzheimer (Ono *et al.*, 2004). Des études sur l'acide carnosique et son dérivé hydroxylé oxydatif carnosol, ont montré qu'ils avaient des effets anti-inflammatoires et anti-tumoraux (Masuda *et al.*, 2002).



**Figure 02 :** Les structures chimiques des principaux composants antioxydants présents dans les feuilles du romarin (Wollinger *et al.*, 2016).

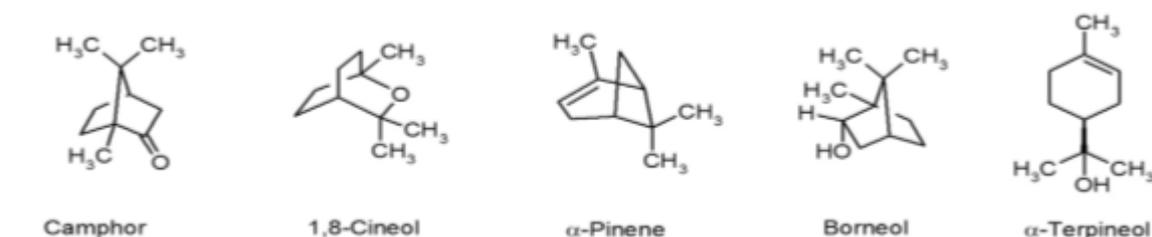
#### I.2.1.4 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* est généralement obtenue par hydrodistillation; elle est incolore ou légèrement jaune. Les composants majoritaires sont représentés dans le (Tableau I) (Wollinger *et al.*, 2016).

**Tableau I :** Composants principaux de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* (Wollinger *et al.*, 2016).

Composé	Pourcentage (%) dans les feuilles de la plante
1.8-cinéole	(15-30) %
Camphre	(10-25) %
$\alpha$ -pinène	(10-25) %
Borneol	(3-20) %
Camphène	(5-10) %
Acétate de bornyle	(1-5) %

Les structures chimiques de ces composants sont présentées dans la (Figure 03) :



**Figure 03:** Les structures chimiques des composants de l'HE du romarin  
(Wollinger *et al.*, 2016).

## I.2.2. *Origanum glandulosum*

### I.2.2.1. Description botanique

*Origanum glandulosum* (Figure 04), est une plante herbacée ou sous ligneuse à la base , à tiges toutes dressées, épis denses, à fleurs restant contiguës après la floraison, corolle de couleur blanchâtre à lèvres inférieure, bien plus longue que la lèvre supérieure, calice non bilabié à 5 dents subégales, avec un épi linéaire glabre ou faiblement pubescent (Quezel et santa, 1963).

D'après Quezel et santa (1963), seulement trois espèces du genre *Origanum*, sont répertoriées au niveau du territoire Algérien à savoir: *Origanum majorana* L, *Origanum glandulosum* Desf et *Origanum floribundum* Mundy.

### I.2.2.2. Classification botanique

Cette classification est faite selon (Gaussen *et al.*, 1982).

<b>Règne :</b>	Végétal
<b>Embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Sous-classe :</b>	Asteridae
<b>Ordre :</b>	Lamiales
<b>Famille :</b>	Lamiaceae, labiées
<b>Genre :</b>	<i>Origanum</i>
<b>Espèces :</b>	<i>Origanum glandulosum</i>



**Figure 04 :** Photographie d'*O.glandulosum*  
(Bendahou *et al.*, 2008)

### I.2.2.3. Utilisation traditionnelle

*Origanum glandulosum* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques (contre la coqueluche, la toux, la fièvre et la bronchite) (Mechergui *et al.*, 2016).

En raison de la variabilité de la composition chimique, les plantes d'*Origanum* sont largement utilisées comme herbe culinaire, pour aromatiser les produits alimentaires et les boissons alcoolisées et pour leurs propriétés pharmacologiques, y compris les activités antibactériennes, antioxydantes, antithrombines et antihyperglycémiques (Khalfi *et al.*, 2008).

### I.2.2.4. Composition chimique de l'huile essentielle

Plusieurs études ont démontré que les plantes du genre *Origanum*, renferment des huiles essentielles, des acides phénoliques et des flavonoides (Nakiboglu *et al.*, 2007).

Thymol, carvacrol, p-cymene et  $\gamma$ -terpinène sont les principaux composants des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* (Tableau II) (Mechergui *et al.*, 2016).

**Tableau II** : Composition chimique de l'huile essentielle d'*O.glandulosum* (Mechergui *et al.*, 2016).

constituants	Pourcentage (%)
Thymol	43.7 %
Carvacrol	2.9 %
P-cymene	12.7 %
$\gamma$ -terpinène	27.1 %
$\beta$ -Myrcene	2.5 %
$\alpha$ -terpinène	3.2 %
$\alpha$ -Thujene	1.1 %



### I.3. Activités biologiques

#### I.3.1. Activité antioxydante

##### I.3.1.1. Radicaux libres et stress oxydatif

Plusieurs réactions biologiques, requises pour le fonctionnement normal de l'organisme, se déroulent dans les cellules et les tissus du corps. Ces réactions provoquent souvent la génération d'espèces avec des électrons non appariés appelés radicaux libres. Ces radicaux libres comprennent les espèces réactives oxygénées (ERO), les espèces réactives d'azote (ERN) et les espèces réactives de soufre (ERS) (Taofiq *et al.*, 2016).

Le corps a généralement des mécanismes pour équilibrer la production des ROS et la neutralisation au moyen de son pool antioxydant intrinsèque, mais la plupart du temps, elle peut s'affaiblir en raison de la production excessive des ROS, induisant le stress oxydatif (Moreno *et al.*, 2016).

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydante (Taofiq *et al.*, 2016).

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

##### I.3.1.2. Antioxydants

Les antioxydants (AO) sont des composés qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation des lipides et d'autres biomolécules, en bloquant l'initiation ou la propagation des réactions en chaîne oxydante (Wollinger *et al.*, 2016).

Ces réactions peuvent causer des dommages fonctionnels au corps humain, comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires. Les antioxydants peuvent empêcher ce processus en raison de leurs propriétés redox comme le comportement réducteur, le don d'hydrogène (Moreno *et al.*, 2006). Ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires (Cillard *et al.*, 2006).

### I.3.1.3. Mode d'action d'un antioxydant

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés de phénols (Zieliński *et al.*, 2012).

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de position appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (Cillard *et al.*, 2011).

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Cillard *et al.*, 2006).

### I.3.1.4. Types d'antioxydants

Les tissus végétaux contiennent un réseau de composés qui contrôlent le niveau d'espèces réactives d'oxygène (Moreno *et al.*, 2006). L'effet oxydatif de ces dernières peut être minimisé par l'utilisation d'antioxydants. Il existe deux sources d'antioxydants :

- **Sources synthétiques:** Ils constituent une source importante d'antioxydants comme l'hydroxytoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) (Mechergui *et al.*, 2010).
- **Sources enzymatiques:** Les antioxydants d'origine alimentaire sont nombreux, certains sont liposolubles comme le tocophérol;  $\beta$  carotène; lycopène, d'autres sont hydrosolubles comme l'acide ascorbique; et d'autre sont plus hydrosolubles que liposolubles comme les polyphénols (Moreno *et al.*, 2006).

Les antioxydants synthétiques sont nocifs et cancérogènes ; pour cette raison, l'application d'extraits de plantes naturelles comme antioxydants enzymatiques dans l'industrie alimentaire devient de plus en plus importante (Wollinger *et al.*, 2016).

En outre, il a été rapporté que l'utilisation d'antioxydants naturels peut protéger les effets nocifs des radicaux libres induits chez le corps humain (Niki, 2012). Dans ce contexte, les huiles essentielles et leurs composants ont été intensément criblés pour leurs activités antioxydantes dans les industries alimentaires, en raison de leur état de sécurité relative et de leur large acceptation par les consommateurs (Mothana *et al.*, 2012).

### **I.3.2. Activité anti-inflammatoire**

#### **I.3.2.1. Réponse inflammatoire**

L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure (infection, blessure, agression mécanique, etc) (Yougbaré-Ziébro *et al.*, 2016). Autrement dit la réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé (Wantida *et al.*, 2016).

#### **I.3.2.2. Aspects biologiques de l'inflammation**

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-Ziébro *et al.*, 2016).

#### **I.3.2.3. Inducteurs de l'inflammation**

Les inducteurs d'inflammation sont nombreux et variés, ils peuvent être exogènes ou endogènes :

- **Inducteurs exogènes** : comme les corps étrangers (micro-organisme : bactéries virus, etc), les allergènes, les toxines, les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) (Medzhitov *et al.*, 2008).
- **Inducteurs endogènes** : la mort cellulaire, réactions inflammatoires secondaires, cristaux endogènes, dégradation de la matrice extracellulaire (MEC) (Medzhitov *et al.*, 2008).

#### I.3.2.4. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires

La réponse inflammatoire implique de nombreux enzymes parmi lesquels les lipoxygénases et les cyclooxygénases (COX 1 et COX 2) qui synthétisent des médiateurs pro-inflammatoires tels que les leucotriènes et les prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (Youghbaré-Ziébro *et al.*, 2016). De plus, la surproduction de médiateurs inflammatoires tels que les interleukines (IL 1 $\beta$ , IL-6, IL-8), le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), le facteur nucléaire- $\kappa$ B (NF- $\kappa$  B), la molécule d'adhésion (ICAM-1) peuvent conduire à des maladies inflammatoires et au cancer (Taofiq *et al.*, 2016).

Les inflammations aiguës peuvent se guérir de manière spontanée ou avec un traitement en faisant appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) et non stéroïdiens. Ces molécules bien qu'étant efficaces sont associées à des effets iatrogènes tels des dommages digestifs et des toxicités rénales (insuffisance rénale aiguë). En raison de ces problèmes iatrogènes, il est impérieux d'orienter la recherche de nouveaux agents thérapeutiques anti-inflammatoires vers les plantes médicinales qui constituent une source potentielle de molécules naturelles anti-inflammatoires (Youghbaré-Ziébro *et al.*, 2016).

En effet de nombreuses études ont révélé que ces plantes, ainsi que leurs composés isolés tels les terpènes, les composés phénoliques, les stérols, les acides gras et d'autres métabolites bioactifs présentent un potentiel anti-inflammatoire basé sur leur capacité à réduire la production des médiateurs inflammatoire ou par d'autres mécanismes en bloquant les voies de cyclooxygénase et la lipoxygénase. Par conséquent, trouver des inhibiteurs naturels d'une ou deux étapes dans la voie NF- $\kappa$ B (facteur de transcription qui régule l'expression de plusieurs cytokines et enzymes pro-inflammatoires) est crucial dans la prévention de l'inflammation (Taofiq *et al.*, 2016).

*MATERIEL  
ET METHODES*



## II.1. Matériel végétal

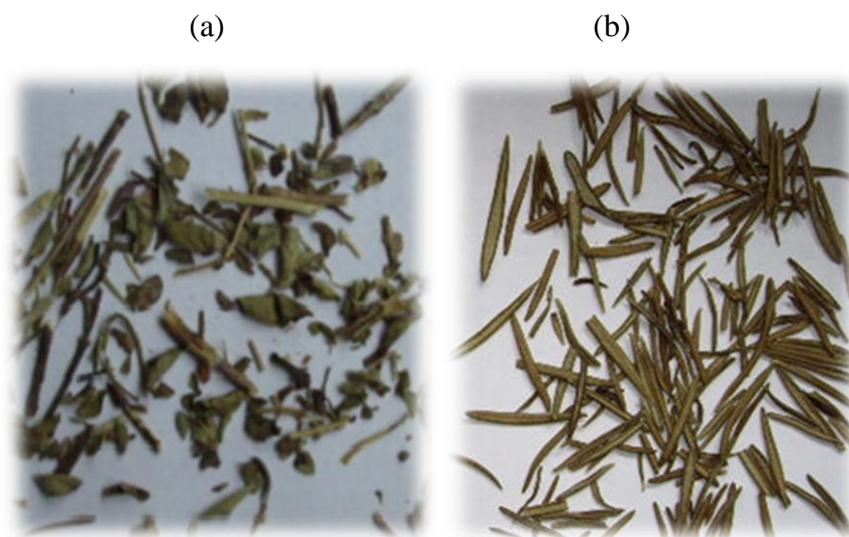
### II.1.1. Récolte des plantes

La présente étude est portée sur deux espèces de plantes de la famille des labiées qui sont l'origan (*Origanum glandulosum*) et le romarin (*Rosmarinus officinalis*).

Les plantes ont été récoltées au cours du mois du mars 2017 dans la région de BOUKHLIFA située à 45Km à l'Est de Bejaia. L'identification des taxons retenus est effectuée au sein du laboratoire d'écologie végétale de l'université de Bejaia en utilisant la clé de détermination de de la flore de **Quezel et Santa (1963)**.

### III.1.2. Séchage

Les feuilles des plantes fraîchement récoltées sont lavées à l'eau courante afin de les débarrasser de la poussière et d'autres particules, ensuite séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière pour empêcher la photo-oxydation (**Figure 05**).



**Figure 05** : Feuilles des plantes après séchage (*O.glandulosum* (a) et *R.officinalis* (b)).

### III.1.3. Broyage

Le matériel végétal séché a été ensuite broyé à l'aide d'un broyeur électrique en une poudre fine pour obtenir une structure granulaire homogène, et conservés dans des flacons en verre en vue de leur analyse.

## II.2. Huiles essentielles

### II.2.1. Procédé d'extraction

L'obtention des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Khia *et al.*, 2014). La méthode appliquée est celle décrite dans la Pharmacopée européenne en 2008 et selon les recommandations de 2008 de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Trois distillations de 200 g de matériel végétal ont été réalisées pendant deux heures dans un ballon de deux litres 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant (Figure 06) (Wollinger *et al.*, 2016).

L'huile essentielle a été conservé dans des tubes en verre fumé à l'abri de la lumière et à une température entre 0 et 4 °C afin de préserver au maximum l'intégrité de ces molécules (Reyes-Jurado *et al.*, 2015).



Figure 06 : Dispositif d'hydrodistillation utilisé à l'échelle du laboratoire.

### II.2.2. Calcul du rendement

Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé d'après la relation suivante (Ndoye *et al.*, 2016) :

$$R = Pa / Pb.100$$

Où :

R : rendement en huile essentielle (%).

Pa : poids de l'huile essentielle extraite en g.

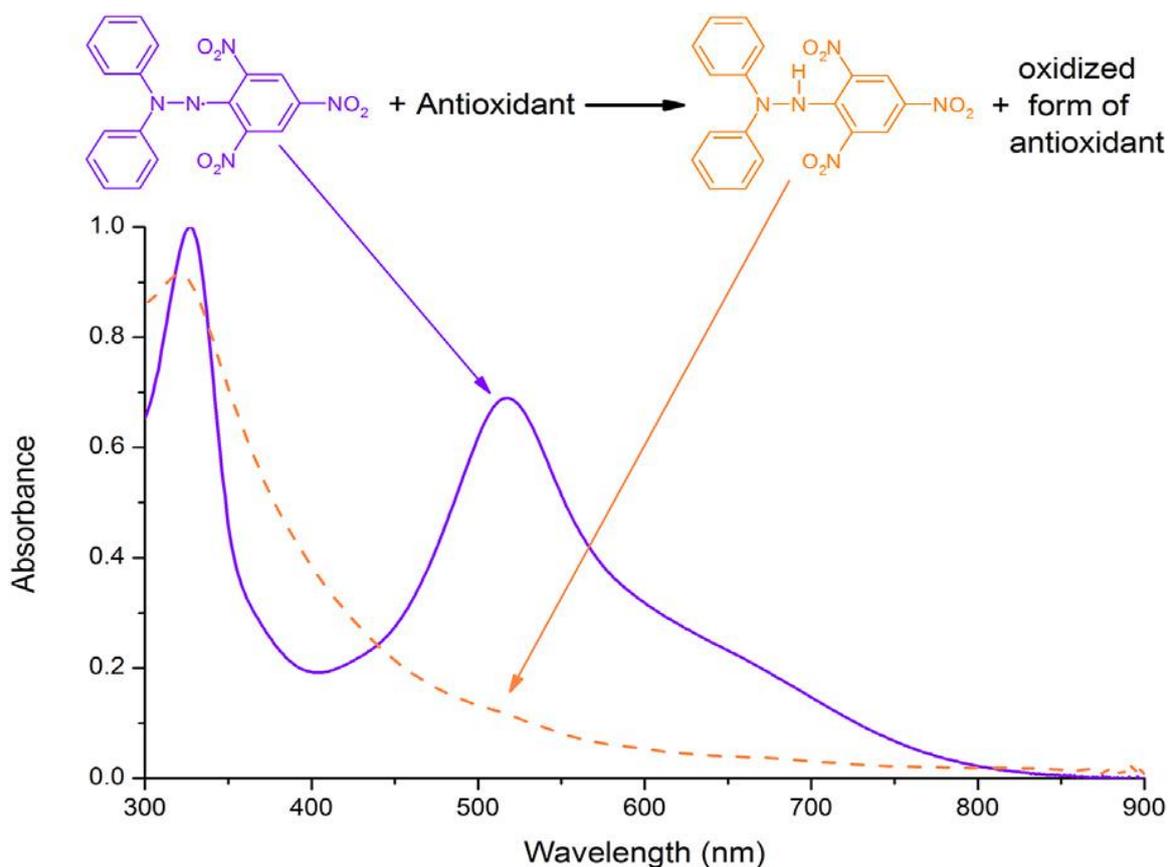
Pb : poids de la plante en g.

## II.3. Evaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante

### II.3.1. Effet scavenger du radical DPPH

- Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine de couleur jaune (**Figure 07**), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu (**Wollinger *et al.*, 2016**). Autrement dit, il a une forte absorption à une longueur d'onde d'environ 517 nm en raison de la présence d'un électron non apparié ; au fur et à mesure que cet électron devient apparié en présence d'un antioxydant (donneur d'hydrogène), la force d'absorption diminue (**Mechergui *et al.*, 2016**).



**Figure 07 :** Réaction entre le radical DPPH (violet) et un antioxydant donnant la molécule de DPPH neutralisée (jaune). Les spectres UV/VIS correspondants sont également affichés (**Wollinger *et al.*, 2016**).

- **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur des radicaux libres DPPH des huiles essentielles des plantes étudiées est effectué selon la méthode rapportée par (Wu et Ng, 2008) , avec une légère modification.

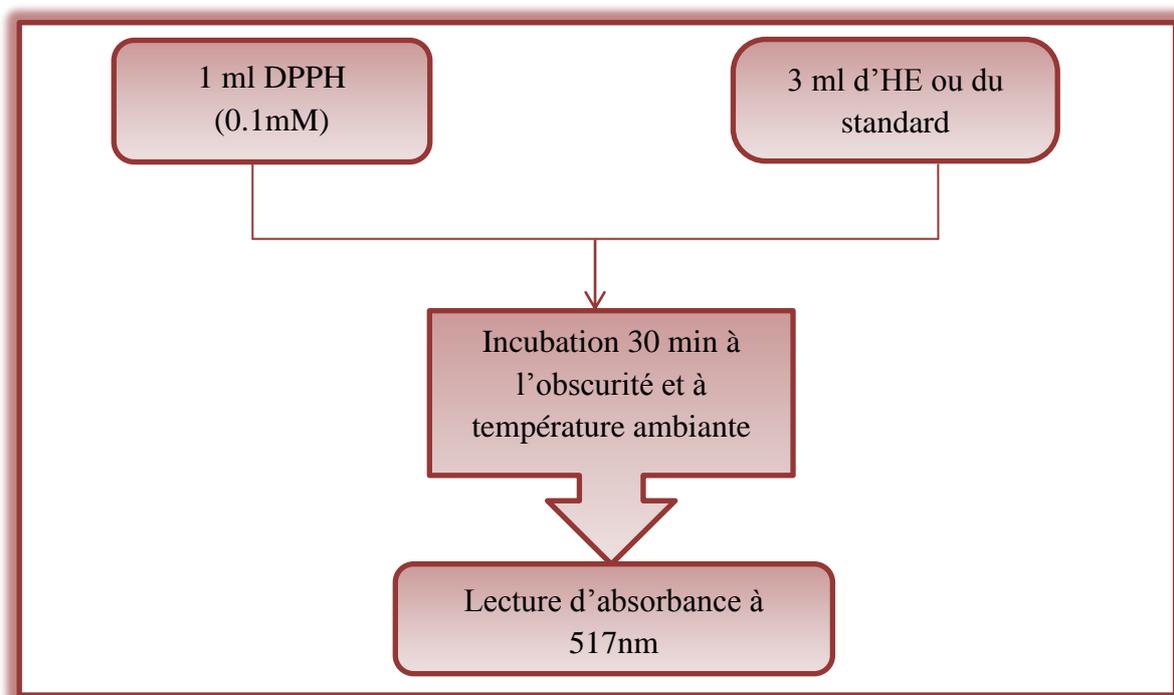
- Préparation de la solution DPPH**

La solution de DPPH 0.1 mM a été préparée par solubilisation de 2 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol, puis conservé à l'abri de la lumière dans un flacon opaque pour empêcher sa dégradation (Wu et Ng, 2008).

- Réalisation du test**

Une solution méthanolique de DPPH à 0.1 mM est mélangée avec différentes concentrations croissante de l'HE d'*Origanum glandulosum* et de *Rosmarinus officinalis*. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm (Figure 08).

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif ; et le méthanol comme contrôle négatif pour la préparation des différentes dilutions des HEs.



**Figure 08** : Protocole de réduction de radical DPPH (Wu et Ng ,2008).

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé comme suit :

$$\text{pourcentage d'inhibition \%} = \frac{\text{Abs } C - \text{Abs } T}{\text{Abs } C} \times 100$$

Où :

**Abs T** : absorbance de test.

**Abs C** : absorbance de contrôle.

**NB** : le contrôle négatif contient le méthanol à la place d'HE et le standard.

### II.3.2. Test du pouvoir réducteur

- **Principe**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antiradicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) présent dans le complexe  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (**Figure 09**); la liaison de ce dernier au ligand crée une couleur bleu marine très intense (**Bentabet et al., 2014**).

L'absorbance peut être suivie à 595 nm et elle est corrélée avec la quantité d'antioxydants. Trolox ou l'acide ascorbique ont été utilisés comme références (**Bentabet et al., 2014**).

- **Mode opératoire**

La détermination du pouvoir réducteur est réalisée selon la méthode de (**Oktay et al ., 2003**) comme l'indique la (**Figure 09**).

- **Préparation des solutions**

\* Préparation de tampon phosphate à 0.2 M (pH=6,6) :

Des différentes quantités des sels : KCL,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  et NaCl dissout dans de l'eau distillée.

\* Les solutions de  $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , TCA et ( $\text{FeCl}_3$ ) ont été préparées dans l'eau distillée.

**- Réalisation du test**

On introduit dans des tubes à essai 1 ml de l'extrait à différentes concentrations, 2,5 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium [ $K_3Fe(CN)_6$ ] à 1%. On incube le mélange au bain marie à 50°C pendant 20 minutes, puis on lui ajoute 2,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% et on centrifuge à 3000 rpm pendant 10 minutes. 2,5 ml du surnageant sont prélevés puis additionnés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de chlorure ferrique  $FeCl_3$  à 0,1%. En fin, une lecture d'absorbance est faite à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par l'eau distillée.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans ce test dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

**• Expression des résultats**

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

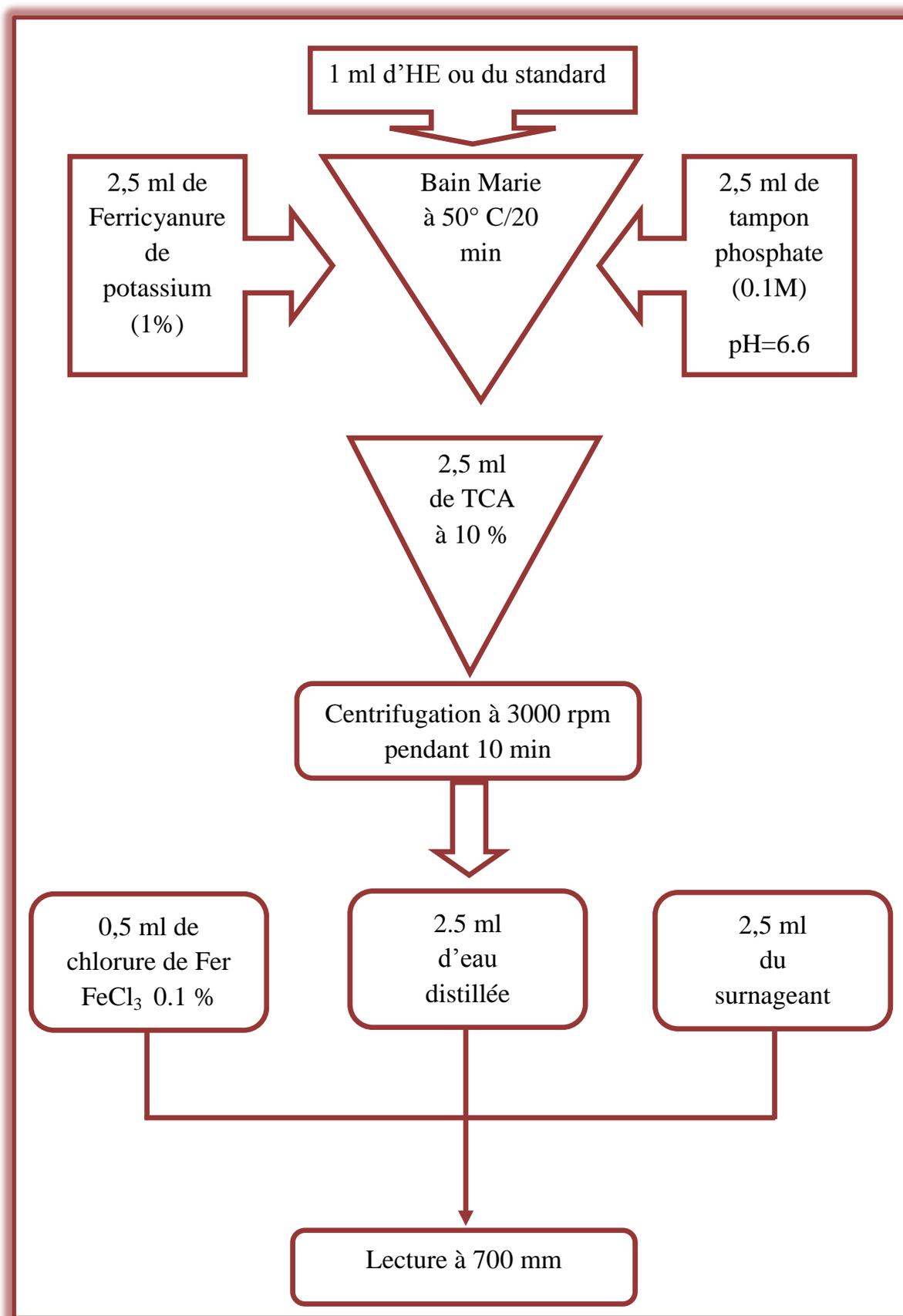


Figure 09 : Protocole de détermination du pouvoir réducteur (Oktay *et al.*, 2003).

## II.4. Evaluation *in-vitro* de l'activité anti-inflammatoire

### II.4.1. Inhibition de la dénaturation protéique (Albumine Humaine)

- **Principe**

La dénaturation affecte presque toutes les propriétés physico-chimiques des molécules ; elle varie considérablement avec les divers agents physiques et chimiques qui l'entraîne et aussi selon le caractère et la concentration des solutions protéïques (**Mizushima et Kobayashi, 1968**). Cette dénaturation est souvent associée à une inflammation ; par conséquent, l'inhibition de la dénaturation des protéïnes a été largement utilisée comme modèle de dépistage *in- vitro* pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire (**Chaiyana et al., 2016**).

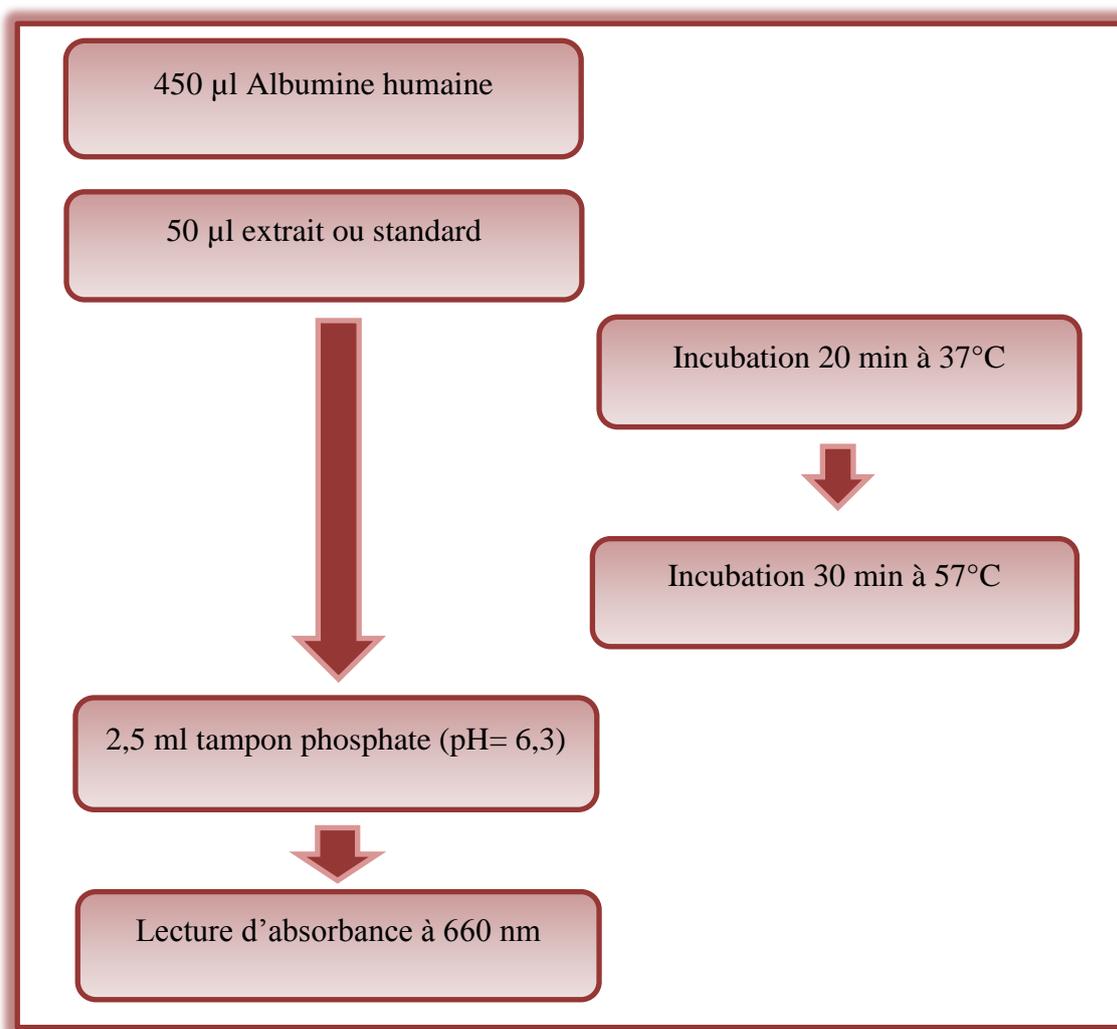
- **Mode opératoire**

L'effet inhibiteur *in-vitro* des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et de *Rosmarinus officinalis* a été déterminée en utilisant la méthode décrite par (**Habibur et al., 2012**) avec certaines modifications.

#### -Réalisation du test

On prépare des solutions de 0.5 ml qui consistent en 0.45 ml de solution d'albumine humaine à 2% et 0.05 ml des différentes concentrations croissantes des huiles essentielles et de standard : le diclofénac, qu'est un médicament anti-inflammatoire. Les échantillons ont été incubés à 37C° dans le bain marie pendant 20 min, puis à 57 C° pendant 30 min. Après refroidissement des échantillons ; 2.5 ml du tampon phosphate (pH =6.3) a été ajouté à chaque tube. Pour le contrôle, on utilise 0.05 ml de l'eau distillée à la place de l'HE et de standard (**Figure 10**).

La turbidité de la solution d'albumine est suivie par la lecture de l'absorbance à 660 nm.



**Figure 10** : Protocole d'inhibition de la dénaturation de l'albumine (**Habibur et al., 2012**).

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule suivante:

$$\text{pourcentage d'inhibition \%} = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs T}}{\text{Abs C}} \times 100$$

Où :

**Abs C** : Absorbance de contrôle.

**Abs T** : Absorbance de test

## II.4.2. Evaluation de la protection contre l'hémolyse (stabilisation membranaire)

### • Principe

Si les globules rouges (GR) sont exposés à des substances nuisibles telles que le milieu hypotonique, la rupture de leurs membranes se produira ; provoquant ainsi la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant.

L'effet hémolytique de la suspension hypotonique est lié à l'accumulation excessive du liquide dans la cellule (**Habibur et al., 2015; Labu et al., 2015**).

L'hémolyse est détectée visuellement en montrant une teinte rose à rouge dans le sérum ou le plasma. Dans notre étude, la stabilisation de la membrane des globules rouges est effectuée par l'inhibition de l'hypotonicité (**Habibur et al., 2015 ; Shobana et Vidhya, 2016**). La lecture de la densité optique des surnageants récupérés est réalisée par un spectrophotomètre visible.

### • Mode opératoire

La méthode suivie pour l'étude de l'activité protectrice des HEs sur la membrane des érythrocytes est celle de (**Labu et al., 2015**).

#### - Préparation de la suspension érythrocytaire

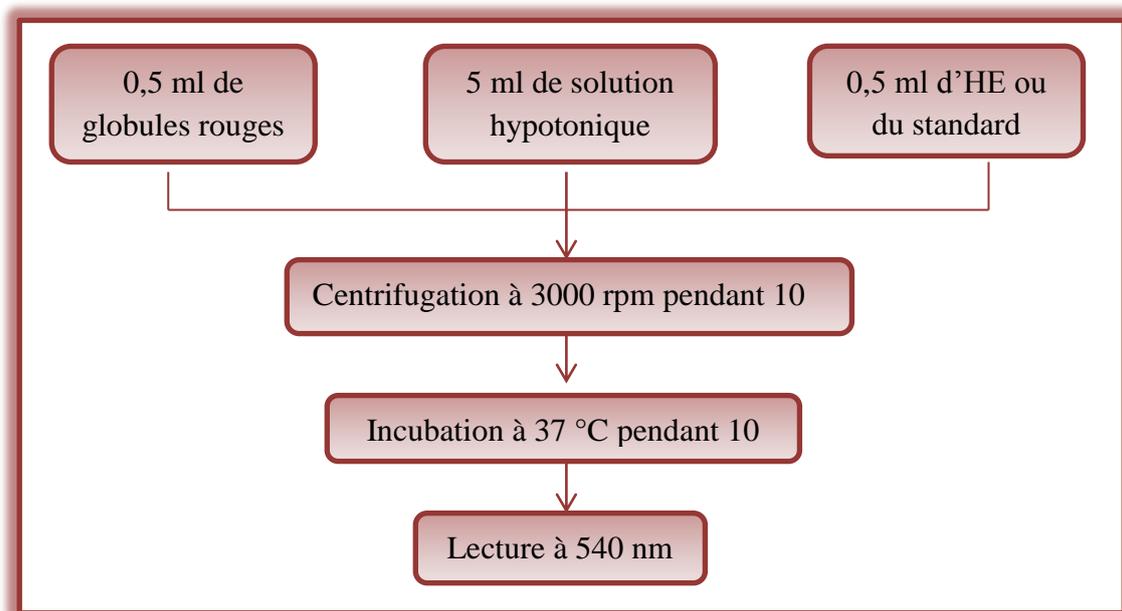
Le sang a été prélevé d'un volontaire sain qui n'a pas pris d'anti-inflammatoires pendant 15 jours avant le prélèvement. L'obtention des globules rouges du sang total a été effectuée comme suit :

- Centrifugation de sang pendant 10 min à 3000 rpm.
- Lavage des érythrocytes trois fois avec une solution iso-saline [(154 mM NaCl) préparée dans du tampon phosphate à 10 mM (pH 7,4)].
- Reconstitution des globules rouges sous forme d'une suspension à 10% toujours dans la solution iso-saline.
- La solution est conservée à 4°C et utilisée au maximum dans les six heures suivant sa préparation.

#### - Réalisation du test

L'échantillon d'essai contient 0,5 ml de la suspension d'érythrocytes avec 5 ml de la solution hypotonique (50 mM NaCl ) et 0,5 ml des différentes concentrations des HEs.

Les mélanges ont été centrifugés pendant 10 min à 3000 rpm, puis incubés pendant 10 min à 37°C. L'absorbance de l'hémoglobine libéré dans le surnageant a été mesurée à 540 nm (**Figure 12**). Le diclofénac a été utilisé comme standard à différentes concentrations.



**Figure 12** : Protocole de stabilisation membranaire (Labu *et al.*, 2015).

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse est calculé par la formule suivante:

$$\text{pourcentage d'inhibition \%} = \frac{\text{Abs } C - \text{Abs } T}{\text{Abs } C} \times 100$$

Où :

**Abs C** : Absorbance de control

**Abs T** : Absorbance de test

## II.5 Etude statistique

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD et analysés par le test ANOVA univarié. Les valeurs de  $P > 0.05$  sont considérées statistiquement significatives.



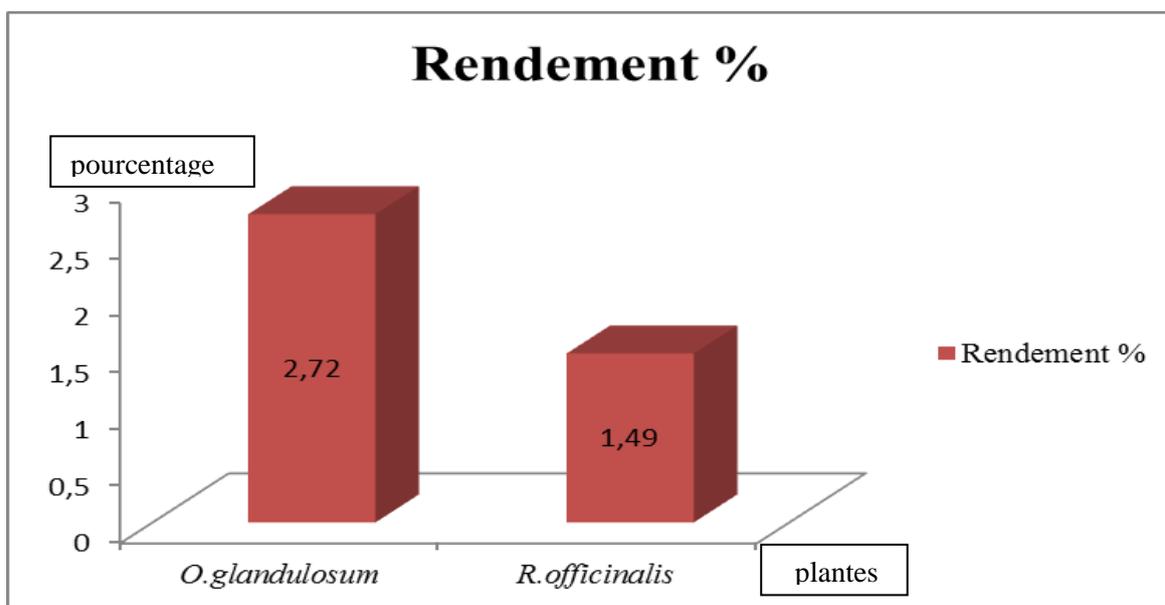
*RESULTATS  
ET DISCUSSION*



### III.1. Rendement en huile essentielle

L'extraction par hydrodistillation des feuilles des plantes étudiées a fourni des huiles essentielles ayant des colorations variables allant du jaune clair pour *Rosmarinus officinalis* (Annexe I.1), au jaune relativement foncé pour *Origanum glandulosum* (Annexe I.2), avec de fortes et persistantes odeurs.

Le rendement en HE des plantes étudiées (*O.glandulosum* et *R.officinalis*), est exprimé en pourcentage massique (g/100g) par rapport à la matière sèche.



**Figure 12** : Rendement en huile essentielle d'*O.glandulosum* et *R.officinalis*.

Le rendement en HE, extraite par la méthode d'hydrodistillation, est illustré dans la (Figure 12). D'après cette figure on constate, que le rendement en HE d'*O.glandulosum* ( $2,72 \pm 0,21$ ) %, est significativement supérieur à celui obtenu pour la plante *R.officinalis*, qui est de ( $1,49 \pm 0,19$ ) % ( $P \leq 0,05$ ).

En comparant séparément les rendements en HEs obtenus au cours de cette étude, avec ceux rapportés dans la littérature ; les constats suivants ont été révélés :

Le rendement en HE pour *O.glandulosum* obtenu dans cette étude, est inférieur à celui trouvé par **Bendahou et al., 2008** pour la même espèce, récoltée dans la région Ouest de l'Algérie, celui-ci est de 3,3% et 4,8% respectivement par hydrodistillation et par hydrodistillation assistée par micro-ondes. Il est deux fois inférieur à celui obtenu par *O.compactum* (5,4%) (**Bouchra et al., 2003**).

Par ailleurs, la teneur en HE d'*O.glandulosum*, de trois régions de Bejaia (Kherrata, El-kseur et Teskriout) est de 1 ; 1,5 et 2,5 % (v/m) respectivement (Sari *et al.*, 2006).

Pour *R.officinalis* le rendement est inférieur à celui trouvé au Maroc (Berkine) qui est de 2,21% mais qui est supérieur au rendement trouvé en Tunisie qui est de 1,25 % (Khia *et al.*, 2014).

Les résultats obtenus sont du même ordre de grandeur que les études rapportées par Fechtal *et al.* (2001) et Ayadi *et al.* (2011). Ces auteurs ont montré que la teneur en HE de *R.officinalis* varie entre 1 à 2,5 %.

Selon plusieurs auteurs, l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huiles essentielles (Mechergui *et al.*, 2016).

De plus la composition en HE, extraite par hydrodistillation, peut être influencé par la quantité en eau, mise dans le ballon de distillation, car certains composés tels que : le terpinèn-4-ol, l' $\alpha$ - terpinéol et le cinéol sont peu solubles dans l'eau (Williams et Lusunzi, 1994).

### III.2. Détermination de la masse volumique des huiles essentielles

La détermination de la masse volumique des HES d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* est effectuée, par la méthode gravimétrique à 20°C et les résultats obtenus sont représentés au niveau du (Tableau III).

**Tableau III** : Masse volumique des HES d'*O.glandulosum* et *R.officinalis*

Echantillons	$\rho$ ( g /ml )
<i>Origanum glandulosum</i>	0,9 $\pm$ 0,02
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,88 $\pm$ 0,01

D'après les résultats regroupés dans le **Tableau III**, on constate que, la masse volumique des huiles essentielles étudiées, et analysée statistiquement, présente des différences significatives entre les deux plantes ( $P \leq 0.05$ ).

La masse volumique de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* extraite par hydrodistillation, est de 0,92 g / ml (Busatta *et al.*, 2008). Elle est supérieure à celle obtenue pour *Origanum glandulosum* (0,9 g / ml) et ceci pourrait être expliqué par la variabilité des composants chimiques des deux espèces.

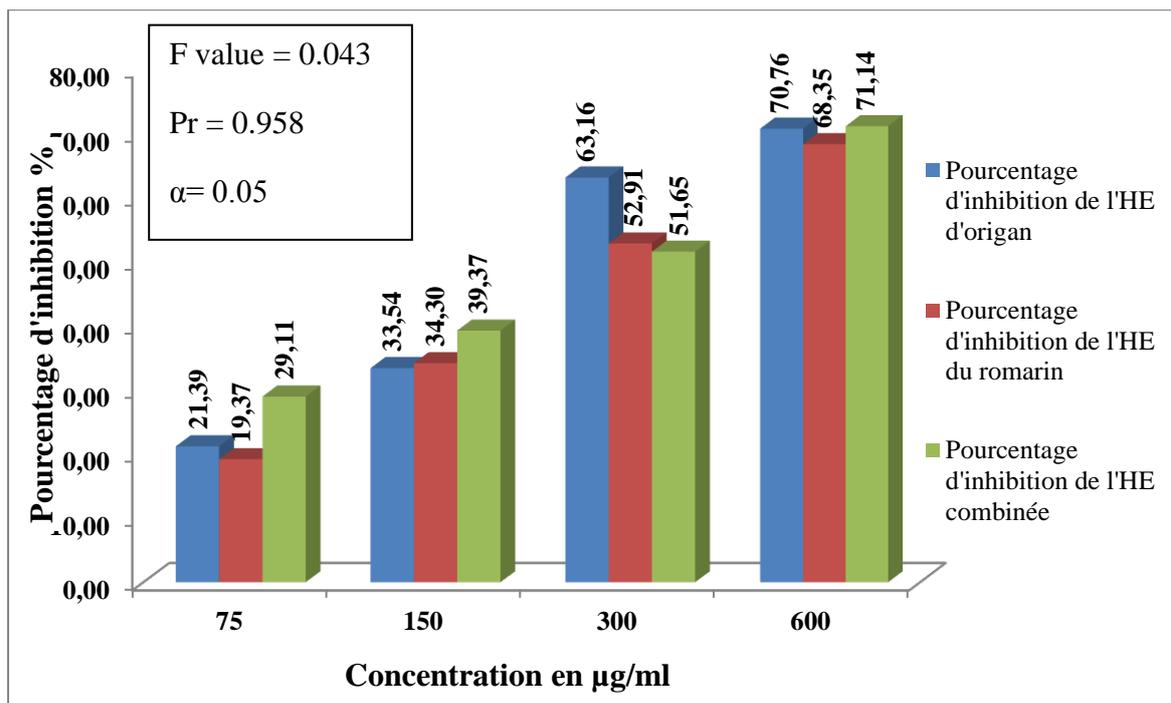
### III.3. Evaluation de l'activité antioxydante

#### III.3.1 Activité scavenger du radical DPPH

Le pouvoir antioxydant des HEs étudiées a été testé par la méthode qui utilise le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical libre relativement stable (Wollinger *et al.*, 2016). Dans ce test, le DPPH de couleur violette a été réduit en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine (Annexe II.1), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu (Mechergui *et al.*, 2016).

Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH. En effet, pour mieux comprendre le pouvoir antioxydant des extraits étudiés ; les valeurs  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) ont été déterminées. Ces concentrations inhibitrices à 50% ont permis de calculer les concentrations des échantillons étudiés nécessaires pour réduire 50% des radicaux DPPH. Elles sont calculées graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés (Annexe II.2), pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Kechar *et al.*, 2016).

Les résultats figurant sur la figure ci-après (Figure 13), illustrent les pourcentages de l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles analysées.



**Figure 13 :** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH des huiles essentielles testées.

L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante des différentes huiles essentielles ainsi que le standard utilisé est exprimée en  $IC_{50}$  (Tableau IV).

**Tableau IV :**  $IC_{50}$  du standard et des HES d'*O.glandulosum* et *R.officinalis*.

Echantillons	$IC_{50}$ (µg/ml)
HE d'origan	309,25 ± 3,6
HE de Romarin	393,14 ± 2,9
HE combinée	306,09 ± 0,71
Acide ascorbique	59,84 ± 0,003

Dans cette étude, l'effet scavenger du radical DPPH le plus faible est obtenu avec l'HE de *Rosmarinus officinalis* avec une  $IC_{50}$  = 393,14 ± 2,9 (µg/ml) ; par contre l'effet scavenger du radical DPPH le plus fort est obtenu dans le cas de l'HE combinée avec une  $IC_{50}$  = 306,09 ± 0,71 (µg/ml).

Les HES des deux plantes (*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis*), ainsi que l'huile combinée ont tous un effet scavenger du radical DPPH très faible, par rapport au standard utilisé, qui est l'acide ascorbique dont l' $IC_{50}$  est de 59,84 ± 0,003 (µg/ml) (Annexe II.2).

Statistiquement (**Annexe II.3**), il n'existe pas de différence significative entre les trois échantillons analysés ( $P > 0,05$ ).

L'HE d'*Origanum glandulosum* possède une forte capacité à réduire le radical DPPH, avec une  $IC_{50} = 309,25 \pm 3,6$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), qui est presque négligeable devant la valeur rapportée par **Sahin et al. (2004)**, pour l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* ( $IC_{50} = 8900 \pm 5$   $\mu\text{g/ml}$ ).

Les HEs d'*O.glandulosum*, extraites par hydrodistillation, de trois régions différentes de Tunisie (Nefza, Bargou, Krib), ont un effet scavenger des radicaux libres DPPH ( $IC_{50}$ ) de  $59,2 \pm 3,72$ ;  $60,8 \pm 1,07$ ;  $79,8 \pm 3,05$  ( $\text{mg/ml}$ ) respectivement (**Mechergui et al., 2010**).

L'effet scavenger du radical DPPH de l'HE d'*Origanum glandulosum*, de la présente étude ( $IC_{50} = 309,25 \pm 3,6$   $\mu\text{g/ml}$ ), est meilleur à celui rapporté par **Mechergui et al. (2010)**. L'HE de *R.officinalis* ( $393,14 \pm 2,9$   $\mu\text{g/ml}$ ) à une faible activité radicalaire par rapport à celle d'*O.glandulosum* et à celle de l'huile combinée.

Les résultats des  $IC_{50}$  retrouvés pour l'HE du *R.officinalis* sont trop élevés par rapport à ceux retrouvés par **Erkan et al. (2008)** et **Dorman et al. (2003)**, qui sont de  $54 \pm 1,4$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) et  $236 \pm 0,1$  ( $\mu\text{g/ml}$ ).

La valeur  $IC_{50}$  est faible dans la combinaison qui contient l'HE d'*Origanum glandulosum* et de *Rosmarinus officinalis*; ces résultats montrent l'efficacité de ces huiles essentielles seules ou en combinaison.

**Kechar et al. (2016)**, ont rapporté que les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange font que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et de la nature des antioxydants.

L'origan et le romarin sont particulièrement riches en acide rosmarinique; ce dernier est très répandu dans les plantes de la famille des labiées. Il montre un fort pouvoir de réduction du radical DPPH (**Bellumori et al., 2016**). Ceci peut être expliqué par la présence de 4 groupements hydroxyle dans sa structure (**Capectka et al., 2005**).

En plus de l'acide rosmarinique, d'autres acides phénoliques tels que : l'acide caféique, l'acide carnosique participent à la réduction du radical DPPH (**Wollinger et al., 2016**).

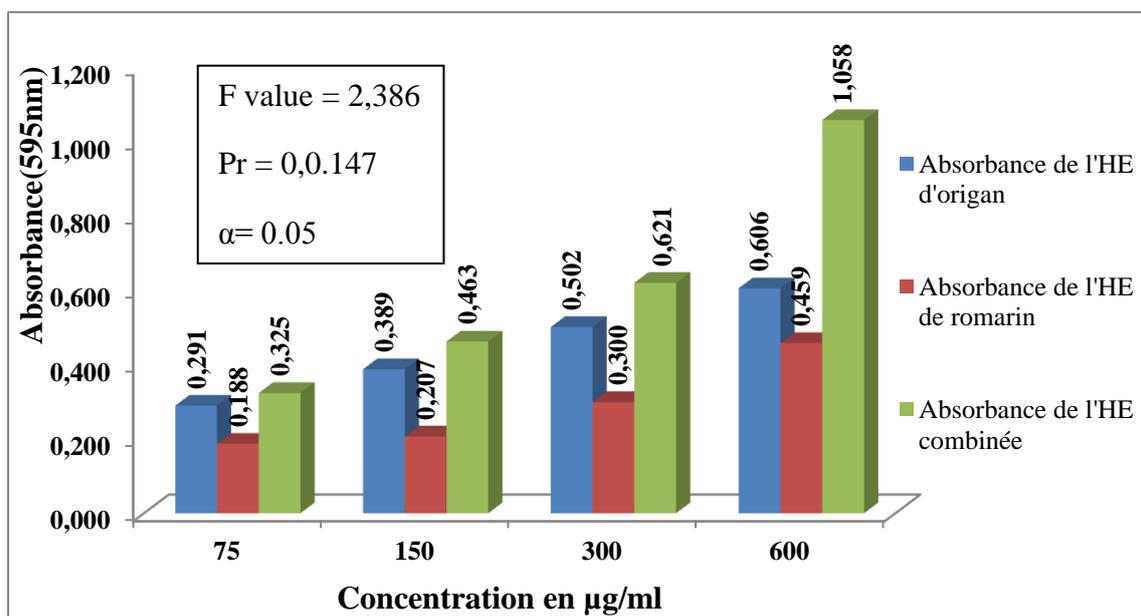
### III.3.2 Mesure du pouvoir réducteur

C'est une méthode de mesure de la puissance des échantillons analysés à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$  qui est l'un des mécanismes antioxydants. C'est une technique rapide, facile et reproductible (Karagözler *et al.*, 2008).

De nombreux auteurs constatent que la capacité réductrice d'un composé peut être considérée comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Karagözler *et al.*, 2008 ; Bentabet *et al.*, 2016).

Dans ce travail, nous avons testé, par la méthode de du pouvoir réducteur, différentes HEs (HE d'*O.glandulosum*, HE de *R.officinalis* et l'HE combinée) (Annexe III.1).

Les mesures du pouvoir réducteur, obtenues pour les HEs testées à différentes concentrations, ont permis de tracer l'histogramme représenté dans la **Figure14**; ainsi que la courbe de régression linéaire pour l'antioxydant de référence (acide ascorbique) utilisé comme standard (Annexe III.2).



**Figure 14** : Mesure du pouvoir réducteur des HEs analysées.

Les résultats de l'activité antioxydante exprimés en termes d'absorbance pour les HEs et le standard sont résumés dans les (Tableau V et VI).

**Tableau V:** Absorbance des HEs analysées à 700 nm.

[C] µg/ml	Abs à 700 nm HE <i>O.glandulosum</i>	Abs à 700 nm HE <i>R.officinalis</i>	Abs à 700 nm HE Combinée
75 µg/ml	0,290 ± 0,01	0,187 ± 0,02	0,324 ± 0,01
150 µg/ml	0,389 ± 0,01	0,207 ± 0,01	0,463 ± 0,01
300 µg/ml	0,502 ± 0,01	0,300 ± 0,01	0,621 ± 0,01
600 µg/ml	0,606 ± 0,01	0,459 ± 0,009	1,058 ± 0,01

**Tableau VI:** Absorbance du standard à 700 nm.

[C] µg/ml	Abs à 700 nm de l'acide ascorbique
31,25 µg/ml	0,242 ± 0,01
62,5 µg/ml	0,388 ± 0,03
125 µg/ml	0,606 ± 0,01
250 µg/ml	1,13 ± 0,03

D'après les résultats obtenus on constate que les HEs des plantes étudiées, montrent la capacité de réduire les ions  $Fe^{3+}$ . Cette capacité est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons.

Tous les échantillons testés ont présenté des activités antioxydantes nettement inférieures que celle de la référence (acide ascorbique). Pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 250 µg/ml (**Tableau VI**).

Les résultats obtenus montrent que la capacité de l'HE de *R.officinalis* et l'HE d'*O.glandulosum* à réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique (Abs= 1,13 ± 0,03). Cette réduction est beaucoup plus importante dans le cas de l'HE combinée (Abs= 1,058 ± 0,01).

La capacité réductrice des HEs d'origan varie de 0,290 à 0,606 ; par contre celle de romarin varie de 0,187 à 0,459 (**Tableau V**). Le pouvoir réducteur de l'HE combinée (1,058) à 600 µg/ml est deux fois supérieur à celui de l'HE de *Rosmarinus officinalis* (0,459).

D'un point de vue statistique (**Annexe III.3**), il n'existe pas de différence significative entre les trois échantillons analysés ( $P > 0,05$ ).

**Martos et al. (2009)**, rapportent que l'HE d'*O.glandulosum*, à toutes les concentrations analysées, a montré la plus haute capacité de réduction ferrique (1,28 TEAC), suivie de l'HE de *Rosmarinus officinalis* (0,48 TEAC).

Le pouvoir réducteur peut être influencé, par les températures utilisées durant l'extraction. En effet **Kim et al. (2006)**, ont rapporté que l'utilisation de hautes températures au cours de l'extraction augmente la libération des antioxydants. Le pouvoir antioxydant des plantes varie également selon la saison de récolte (**Gardeli et al., 2008**).

L'activité antioxydante des HEs, pourrait être expliquée par la combinaison de leur composition chimique, qui contient comme composés majoritaires le thymol, le carvacrol dans le cas d'*origanum glandulosum* et le 1.8-cinéole, le camphre dans le cas de *Rosmarinus officinalis* (**Mechergui et al., 2016 ; (Wollinger et al., 2016)**).

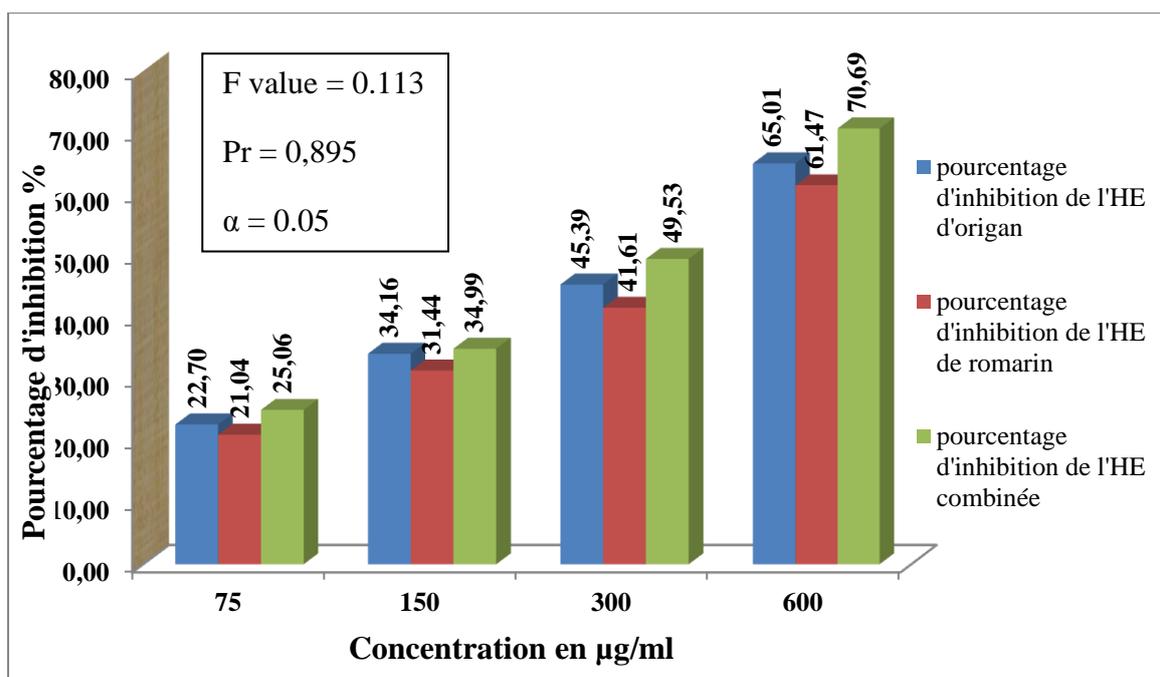
### III.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

#### III.4.1 Effet sur la dénaturation protéique

Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in-vitro* des huiles essentielles des plantes étudiées, nous avons opté pour le modèle anti-dénaturation de l'albumine.

L'effet des différentes huiles essentielles analysées, sur la dénaturation de l'albumine sérique humaine a été évalué à différentes concentrations et les résultats sont représentés dans la **Figure 15**.

Les résultats de cette figure révèlent que tous les huiles essentielles testées, ont protégé la HSA contre la dénaturation induite par la chaleur (57C°). Les pourcentages de cette protection ont été augmentés avec des concentrations croissantes et de manière dépendante de celles-ci.



**Figure 15 :** Pourcentages d'inhibition de la dénaturation de l'albumine des HEs analysées.

De plus, il s'est avéré que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation par l'HE combinée est supérieur comparativement aux autres HEs analysées seules ; et malgré le changement des concentrations, elle reste toujours dominante et atteint le maximum à une concentration de de 600 µg/ml avec un pourcentage de 70,68 % .*Origanum glandulosum* a montré un pourcentage d'inhibition de 65,01 % et *Rosmarinus officinalis* à inhiber la dénaturation protéique à seulement 61,49 % à la même concentration.

Ces observations ont été confirmées en comparant les valeurs  $IC_{50}$  (**Tableau VII**).

**Tableau VII :**  $IC_{50}$  du standard et des HEs d'*O.glandulosum* et *R.officinalis*.

Echantillons	$IC_{50}$ (µg/ml)
HE d'origan	385,42 ± 0,014
HE de Romarin	429,72 ± 0,009
HE combinée	338,63 ± 0,006
Diclofenac	76,390 ± 0,71

Le diclofenac utilisé comme standard (**Annexe IV.1**) a révélé une valeur  $IC_{50} = 76,390 \pm 0.71$  ; donc on constate que son effet est largement supérieur à celui des HEs testées ( $338,63 \pm 0,006$  ;  $385,42 \pm 0,014$  ;  $429,72 \pm 0,009$  respectivement pour l'HE combinée, l'HE d'origan et l'HE du romarin).

L'étude statistique réalisée (**Annexe IV.2**), a montré qu'il n'existe pas de différence significative entre les trois échantillons analysés ( $P > 0,05$ ).

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur structure secondaire par application de stress ou de composé externe, comme un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou une chaleur. La plupart des protéines biologiques perdent leur fonction biologique lorsqu'elles sont dénaturées (**Leelaprakash et Mohan Dass, 2011; Bui Thanh et al., 2016**).

En effet ; sous l'action d'un traitement thermique, l'albumine peut subir des changements de conformation associés à un mauvais repliement de la structure 3D provoquant le processus d'agrégation (**Rondeau, 2009**).

La dénaturation des protéines est l'une des causes bien connues de l'inflammation et conduit à divers maladies inflammatoires dont l'arthrite. Par conséquent, la capacité d'une substance à inhiber la dénaturation des protéines signifie un potentiel apparent d'activité anti-inflammatoire (**Habibur et al ., 2015; Osman et al ., 2016** ).

Par ailleurs, la production ou l'apparition des auto-antigènes dans certaines maladies arthritiques peut être due à la dénaturation des protéines *in-vivo*. Les agents qui peuvent empêcher la dénaturation des protéines donc, seraient de bons candidats pour le développement de nouvelles molécules anti-inflammatoires (**Chandra et al., 2012**).

**Mizushima et Kobayashi (1968)** ont utilisé la dénaturation protéique comme modèle de dépistage *in-vitro* pour les composés anti-inflammatoires.

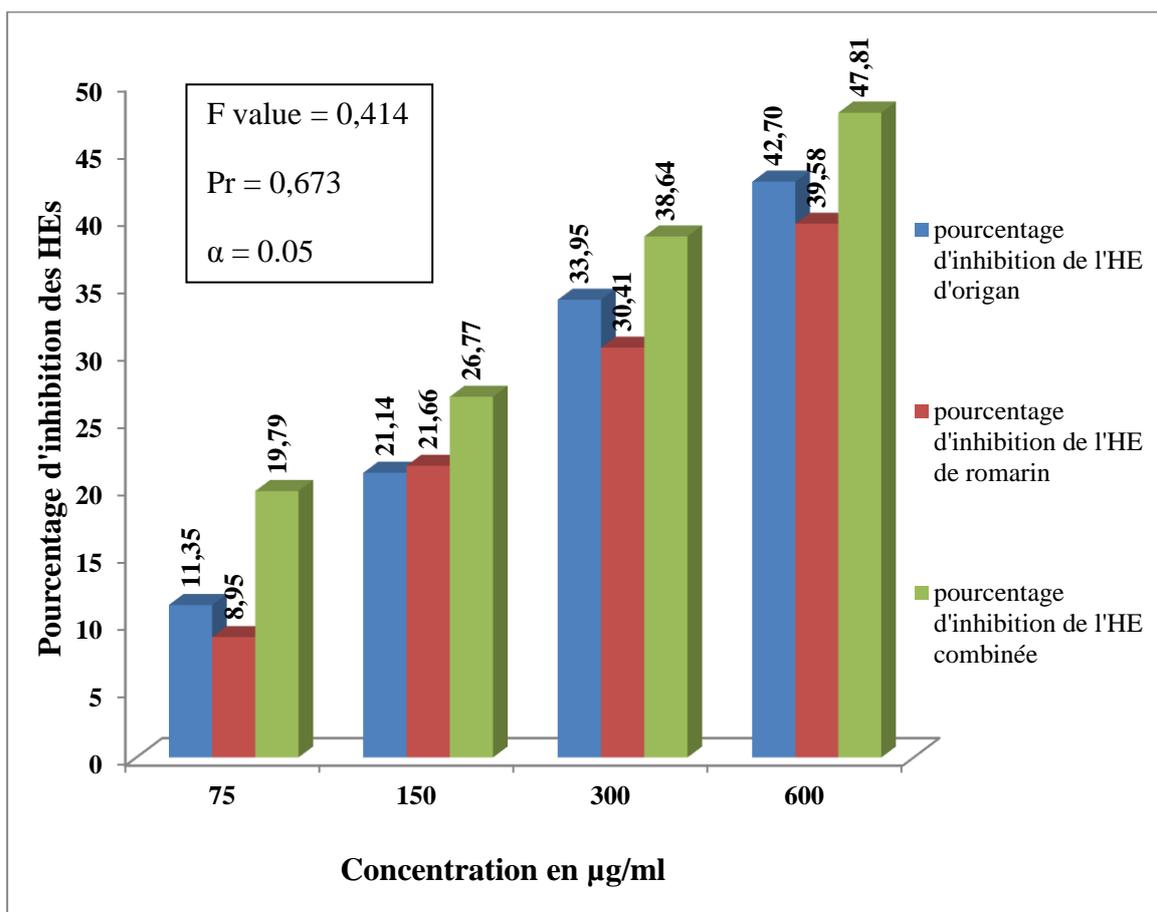
D'après les résultats obtenues, on peut supposer que les huiles essentielles étudiées peuvent inhiber la formation d'auto-antigènes par inhibition de la dénaturation des protéines et de ce fait ils inhibent la formation d'auto-anticorps retrouvés dans les maladies auto-immunes.

### III.4.1 Stabilisation membranaire (hémolyse hypotonique)

L'activité anti-hémolytique des HEs des plantes étudiées a été criblée contre des érythrocytes humains normaux (**Annexe V.1**).

En général, il y a plusieurs avantages à choisir les érythrocytes comme modèle pour étudier le mécanisme de la stabilisation membranaire. D'abord la surface de leurs membranes peut être exactement estimée et aussi elles sont exempt d'organelles intracellulaire ; donc tout effet d'une substance sur l'hémolyse hypotonique pourrait d'une manière justifiable être interprété comme effet sur la membrane elle-même (**Seeman et Weinstein, 1966**).

Les HEs testées ont assuré aux globules rouges humains une protection contre l'hémolyse hypotonique qui augmente en fonction des concentrations utilisées. Les pourcentages d'inhibition obtenus sont présentés dans la (**Figure 16**).



**Figure 16** : Pourcentages d'inhibition de l'hémolyse hypotonique des HEs analysées.

Pour une concentration de 600 µg/ml, les HEs analysées ont apporté aux globules rouges la plus grande protection contre l'hémolyse hypotonique avec des pourcentages d'inhibition de 47,81 % ; 42,70 % pour l'HE combinée et l'HE d'origan respectivement, suivi de celui de l'HE du romarin 39,58 %.

L'activité anti-hémolytique des trois huiles étudiées ainsi que le standard utilisé (Diclofenac) est exprimée en IC<sub>50</sub> (**Tableau VIII**).

**Tableau VIII** : IC<sub>50</sub> du standard et des HEs d'*O.glandulosum* et *R.officinalis*.

Echantillons	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
HE d'origan	642,82 ± 0,01
HE de Romarin	694,82 ± 0,01
HE combinée	583,08 ± 0,02
Diclofenac	0,079 ± 0,001

L'HE combinée a présenté la plus faible IC<sub>50</sub> correspondant à 583,08 ± 0,02 (µg/ml), par rapport à celle de *R.officinalis* qui a indiqué une IC<sub>50</sub> égale à 694,82 ± 0,01 (µg/ml). Par conséquent, il en ressort que l'HE combinée possède une activité anti-hémolytique importante, mais qui reste faible comparée au diclofenac, qui a assuré une protection de 75,20 % à 1000 µg/ml et avec une IC<sub>50</sub> de 0,079 ± 0,001 (µg/ml) (**Annexe V.2**).

Statistiquement (**Annexe V.3**), il n'existe pas de différence significative entre les trois échantillons analysés ( $P > 0,05$ ).

Un grand nombre de composés de différentes sources ont été jugés comme responsables de l'hémolyse *in-vitro*. Parmi celles-ci figurent les substances dérivées des plantes (**Gandhi et Cherian, 2000**), les métaux lourds (**Ribarov et Bemov, 1981**) et les produits pharmaceutiques (**Yamamoto et al., 2001**).



*CONCLUSION*



Dans la présente étude, l'objectif principal était d'évaluer l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles de deux plantes connues dans la médecine traditionnelle à savoir *Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis*. Ces espèces ont été explorées d'avantages, soit en termes de productivité en HEs, soit en termes d'études de leurs activités biologiques.

L'extraction par hydrodistillation des HEs à partir des parties aériennes des deux plantes étudiées : *origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis*, a fourni de bons rendements avec des pourcentages de 2,72 % ; 1,49 % respectivement.

Les HEs des plantes étudiées en particulier l'HE combinée, a un fort effet scavenger du radical DPPH ( $IC_{50} = 306.09 \mu\text{g/ml}$ ), par rapport aux HEs d'origan et du romarin dont les  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) sont de 309.25 ; 393.14 respectivement, mais un effet faible comparé à l'antioxydant de référence qui est l'acide ascorbique, dont l' $IC_{50} = 59.84 \mu\text{g/ml}$ .

Les résultats du test du pouvoir réducteur ont clairement montré que les HEs analysées, possèdent la capacité de réduire les ions  $\text{Fe}^{3+}$ , sachant que l'origan avait une meilleure activité que le romarin. De plus l'activité réductrice est proportionnelle à la concentration, c'est-à-dire, plus les HEs sont concentrées, meilleure est l'activité réductrice.

Ces substances bioactives contenues dans ces deux plantes ont montré une inhibition efficace de l'inflammation comparable à celle d'un anti-inflammatoire non stéroïdien, le diclofenec avec une inhibition importante de l'albumine sérique humaine à 600  $\mu\text{g/ml}$  et une réduction moyenne de l'hémolyse.

La présente étude permet de conclure que ces plantes constituent une importante source en HEs, douées de grandes activités antioxydante et anti-inflammatoire. De ce fait, les résultats de ce travail méritent d'être affinés et pour cela il serait intéressant :

D'identifier les principes actifs responsables de ces activités par des techniques analytiques performantes telles que la GC-MS. Il serait également important de suivre cette étude par des applications *in-vivo* en étudiant la toxicité de ces substances, compléter ces activités par d'autres tests afin de mettre en évidence les possibles mécanismes moléculaires impliqués et d'envisager l'étude d'autres activités biologiques telles que les activités antimicrobienne et anticancéreuse.





*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*



A

**Aboughe Angone, S., Aworet Samseny, R.R.R., et Eyele Mve Mba, C. (2015).** Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. *Phytothérapie*, 13: 283–287.

**Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., Khia, A., Guedira, A., Rahouti, M., et Chaouch, A. (2011).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9: 149–157.

**Ayadi, S., Jerribi, C., and Abderrebba, M. (2011).** Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. *J Soc Alger Chim*, 21(1) : 25–33.

B

**Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils. *Rev. Food Chem. Toxicol*, 46: 446–475.

**Bellakhdar, J. (2006).** Précis de phytothérapie moderne ; plantes médicinales au Maghreb et soin de base. *Edition le Fennec*. P : 294-295.

**Bellumori, M., Innocenti, M., Binello, A., Boffa, L., Mulinacci, N., and Cravotto, G. (2016).** Selective recovery of rosmarinic and carnosic acids from rosemary leaves under ultrasound- and microwave-assisted extraction procedures. *Comptes Rendus Chim*, 19: 699–706.

**Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J.M., and Bernardini, A.F.(2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *origanum glanduosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106: 132-139.

**Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., et Boucherit, K. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12: 364–371.

**Bouchra, C., Achouri, M., Idrissi Hassani, LM., and Hmamouchi, M. (2003).** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea Pers.* *Journal of Ethnopharmacology*, 89: 165-169.

**Brand-Williams W., Cuvelier ME., and Berset C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28: 25–30.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognose. Phytochimie, plantes médicinales. *Ed: TEC et DOC. Lavoisier.*

**Bui Thanh, T., Vu Duc, L., Nguyen Thanh, H., and Nguyen Tien, V. (2016).** *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of isolated compounds of ethanol extract from *Sanchezia speciosa* Leonard's leaves. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 28(1):79-84.

**Busatta, C., Vidal, RS., Popiolski, AS., Mossi, AJ., Dariva, C., Rodrigues, MR., Corazza, FC., Corazza, ML., Vladimir Oliveira, J., and Cansian, RL. (2008).** Application of *Origanum majorana L.* essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiol*, 25(1):207-11.

## C

**Capecka, E., Mareczek, A., and Leja, M. (2005).** Antioxydant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae spices. *Food chemistry*, 93: 223-226.

**Carette, A.S. (2000).** La lavande et son huile essentielle. *In Besombes C., 2008.* Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat.* Université de La Rochelle, 289p.

**Chaiyana, W., Anuchapreeda, S., Leelapornpisid, P., Phongpradist, R., Viernstein, H., and Mueller, M. (2016).** Development of Micro emulsion Delivery System of Essential Oil from *Zingiber cassumunar Roxb.* Rhizome for Improvement of Stability and Anti-Inflammatory Activity. *AAPS PharmSciTech*, 18: 1332–1342.

**Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., and Bhattacharya, S. (2012).** Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 178-180.

**Cillard, J., et Cillard P.** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL 2006*; 13:24-29.

**Couic-Marinier, F., and Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actual. Pharm*, 52: 22–25.

## D

**Degryse, A.C., Delpla, I., et Voinier M.A. (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*, 87p.

**Desmares, C., Laurent, A., et Delerme C. (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS. Anatole, France*, 18p.

**Dif, M., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., et Becheikhi, F.A. (2015).** Enquête sur l'utilisation phytothérapique de 11 plantes médicinales poussant dans le Tessala. *Phytothérapie*, 13: 295–297.

**Djerrad, Z., Kadik, L., and Djouahri, A. (2015).** Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Ind. Crops Prod*, 74: 440–449.

**Djouahri, A., Boudarene, L., and Meklati, B.Y. (2013).** Effect of extraction method on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oil from the leaves of Algerian. *Ind. Crops Prod*, 44: 32–36.

**Dorman, HJD., Peltoketo, A., Hiltunen, R., and Tikkanen MJ. (2003).** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83:255–262.

## E

**Erkan, N., Ayranci, G., and Ayranci E. (2008).** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*, 110:76–82.

## F

**Fechtal, M., Ismaili, R., and Zine el Abidine, A. (2001).** Effet de la transplantation sur la qualité et le rendement en huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.). *Annales de la recherche forestière au Maroc*, 34: 94-102.

## G

---

**Gandhi, V.M., and Cherian, K.M. (2000).** Red cell haemolysis test as an *in vitro* approach for the assessment of toxicity of karanja oil. *Toxicology In Vitro*, 14 : 513-516.

**Gardeli, C., Pagageorgiou, V., Mallouchos, A., Theodosis, K., and Komaitis, M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus L.* and *Myrtus communis L.*: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*, 107: 1120-1130.

**Gausсен, H., Leroy, J.F., et Ozenda, P. (1982).** Précis de botanique, végétaux supérieurs.vol.2. Paris: 2<sup>ème</sup> ed.Masson.

**Ghedadba, N., Bousselfela, H., Hambaba, L., Benbia, S., et Mouloud, Y. (2014).** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare L.* *Phytothérapie*, 12: 15–24.

**Giani, F. Santoro., Maria, das Graças Cardoso., Luiz Gustavo L, Guimarães., Ana Paula, S. P. Salgado., Rubem, F. S. Menna-Barreto., and Maurilio, J. Soares. (2007).** Effect of oregano (*Origanum vulgare L.*) and thyme (*Thymus vulgaris L.*) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol Res*, 100:783–790.

## H

**Habibur Rahman., Chinna Eswaraiah, M., Vakati, K., and Madhavi, P. (2012).** *In-vitro* studies suggest probable mechanism of *Eucalyptus* oil for anti-inflammatory and anti-arthritic activity. *International Journal of Phytopharmacy*, 2(3): 81-83.

**Habibur Rahman., Chinna Eswaraiah, M., and Dutta, A.M. (2015).** *In-vitro* anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *Oryza sativa Var. Joha Rice* (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*, 15 (1): 115-121.

**Hebi, M., and Eddouks, M. (2016).** Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, 14:17–22.

## K

**Karagözler, A., Erdag, CS., and Çalmaz Emek, Y. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111: 7-400.

**Kechar, K., et Hellal, B. (2016).** Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 13: 225–279.

**Khalfi, O., Sahraoui, N., Bentahar, F., and Boutekedjiret, C. (2008).** Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. *J. Sci. Food Agric*, 88: 1562–1566.

**Khia, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Aberchane, M., Quaboul, B., Chaouch, A., Amusant, N., et Charrouf, Z. (2014).** Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, 12: 341–347.

**Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U., and Lee S.C. (2006).** Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food chemistry*, 97: 472-479.

**Kordali, S., Cakir, A., Mavi, A., Kilic, H., and Yildirim, A. (2005).** Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1408–1416.

**Korner, C. (2007).** The use of 'altitude' in ecological research. *Trends Ecol. Evol*, 22: 11.

## L

**Labu, Z.K., Laboni, F.R., Tarafdar, M., Howlader, M.S.I., and Rashid, M.H. (2015).** Membrane stabilisation as a mechanism of anti-inflammatory and thrombolytic activities of ethanolic extract of arial parts of *Spondiasis pinanata* (family: Anacardiaceae). *Pharmacology Online*, 2: 44-51.

**Lee., L.G. Chen., T.L. Chang., W.M. Kea., Y.F. Loc., C.C. Wanga. (2011).** The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food Chemistry*, 124: 833.

**Leelaprakash, G., and Mohan Dass, S. (2011).** *In vitro* anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research*, 3 (3): 189-196.

M

- Martos, M.V., Navajas, Y.R., Zapata, E.S., Lopez, J.F., and Alvarez, J.A.P. (2009).** Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour Fragr. J.*, 25:13–19.
- Masuda T., Inaba Y., Maekawa T., Takeda Y., Tamura H., and Yamaguchi H. (2002).** Recovery mechanism of the antioxidant activity from carnosic acid quinine, an oxidized sage and rosemary antioxidant. *J Agric Food Chem*, 50: 5863–5869.
- Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Ben Lamine, S., Boukhchina, S., and Khouja, M.L. (2010).** Essential oils of *Origanum vulgare L. subsp. glandulosum (Desf.)* Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric*, 90: 1745–1749.
- Mechergui, K., Jaouadi, W., Coelho, J.P., and Khouja, M.L. (2016).** Effect of harvest year on production, chemical composition and antioxidant activities of essential oil of oregano (*Origanum vulgare subsp glandulosum (Desf.) Ietswaart*) growing in North Africa. *Ind.Crops Prod*, 90: 32–37.
- Medzhitov, R. (2008).** Origin and physiological roles of inflammation . *Nature*, 454: 428–435.
- Mizushima, Y., and Kobayashi, M. (1968).** Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. *J. Pharm.Pharmac*, 20: 169-173.
- Moghtader, M., and Afzali, D. (2009).** Study of the antimicrobial proprieties of the oil of Rosemary. *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 5 (3): 393–397.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., and Vojnov, A.A. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res*, 40: 223–231.
- Mothana, R.A., Alsaid, M.S., Hasoon, S.S., Al -Mosaiyb, N.M., Al -Rehaily, A.J., and Al-Yahya, M.A. (2012).** Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa Wall.Benth.* and *Lavandula dentata L.* growing wild in Yemen. *J. Med. Plants Res*, 6: 3066-3071.

**Muanda, N F., Koné, D., Dicko, A., et al. (2009).** Phytochemical composition and antioxidant capacity of three malian medicinal plant parts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 3:147–60.

N

**Nakiboglu, M., Urek, R.O., Kayali, H.A., and Tarhan L. (2007).** Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey. *Food Chem.*, 104, 630–635.

**Ndoye Foe, F.M.C., Tatiana Flore Kemegni Tchintang., Ascencion Maximilienne Nyegue., Jean-Pierre Abdou., Abel Joel Gbaweng Yaya., Alembert Tiabou Tchinda., Jean-Louis Oyono Essame., and François-Xavier Etoa .(2016).** Chemical composition, *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16:117.

**Niki, E. (2012).** Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products? *FEBS Lett.* 586: 3767–3770.

O

**Oktay, M., Gulcin, I., and Kufrevioglu, O.I. (2003).** Determination of *in vitro* antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lebensm-Wiss. U-Technol*, 36:263–271.

**Ono K., Hasegawa K., Naiki H., and Yamada M. (2004).** Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimers b-amyloid fibrils *in vitro*. *J Neurosci Res*, 75:742-750.

**Osakabe N., Yasuda A., Natsume M., and Yoshikawa T. (2004).** Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: Anticarcinogenic effect of *perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. *Carcinogenesis*, 25: 549–557.

**Osman, N.I., Sidik, N.J., Awal, A., Adam, N.A.M., and Rezali, N.I. (2016).** *In vitro* xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of *Barringtonia racemosa* L. and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. *J Intercult Ethnopharmacol*, 5 (4):343 - 349.

Q

**Quezel, P., et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed Centre National de la recherche scientifique, 1170 p.

R

**Rai, M., Paralikar, P., Jogee, P., Agarkar, G., Ingle, AP., Derita, M., and Zacchino, S.** Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. *International journal of pharmaceutics*, 519: 67-78.

**Reisch, C., Anke, A., and Rohl, M. (2005).** Molecular variation within and between ten provenances of *Primula farinosa* (Primulaceae) along an altitudinal gradient in the northern Alps. *Basic Appl. Ecol*, 6: 35–45.

**Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., and López-Malo, A. (2015).** Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Eng. Rev*, 7: 275–297.

**Ribarov, S. R., and Bemov, L.C. (1981).** Relation ship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 640: 721-726.

**Rondeau, P. (2009).** Stress oxydant et glycation : relation structure et activités biologiques de l'albumine *in vitro* et *in vivo* dans le cadre de la pathologie diabétique. *Thèse de doctorat*. Université de la Réunion.

**R. Ribeiro-Santos., D. Carvalho-Costa., C. Cavaleiro., H.S. Costa.,T. Gonçalves Albuquerque., M. Conceiç~ao Castilho., F. Ramos., N.R. Melo., A. Sanches-Silva. (2015).** A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends Food Sci. Technol*, 45: 355.

S

**Sahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., Agar, G., and Ozer, H. (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of

*Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15: 549–557.

**Santoro, G.F., das Graças Cardoso, M., Guimarães, L.G.L., Salgado, A.P.S.P., Menna-Barreto, R.F.S., and Soares, M.J. (2007).** Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol. Res*, 100: 783–790.

**Sari, M., Biondi, D.M., Kaabeche, M., Mandalari, G., D'Arrigo, M., Bisignano, G., Saija, A., Daquino, C., and Ruberto, G. (2006).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour Fragr. J*, 21: 890–898.

**Seeman, P., and Weinstein, J.(1966).** Erythrocyte membrane stabilization by tranquilizers and antihistamines. *Biochemical Pharmacology*, 15: 1737-1752.

**Shobana, S., and Vidhya, R. (2016).** Evaluation of *in vitro* hemolytic activity of different parts of *abutilon indicum* (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(5): 1182 – 1196.

**Singh, C. (1990).** 2R-Hydroxymicromeric acid, a pentacyclic triterpene from *Terminalia chebula*. *Phytochemistry*, 29: 2348-2350.

## T

**Teucher, E., Anton, R., and Lobstein, A. (2003).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Ed : Lavoisier*.

**Toure, M.D. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Cote d'Ivoire. *Thèse de doctorat*. Université Félix Houphouët-Boigny.

**Taofiq, O., Martins, A., Barreiro, M.F., and Ferreira, I.C.F.R. (2016).** Anti-inflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. *Trend. Food Sci.Technol*, 50: 193–210.

## W

**Williams, LR., and Lusunzi, I. (1994).** Essential oil from *Melaleuca dissitiflora*: a potential source of high quality tea tree oil. *Industrial Crops and Products*, 2: 211–217.

**Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., and Kunz, W. (2016).** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis L.* leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim*, 19: 754–765.

**Wu, S-J., and Ng, L-T. (2008).** Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia Linn. var. abbreviata Ser.*) in Taiwan. *LWT*, 41: 323-330.

**y**

**Yamamoto, T., Tsurumaki, Y., Takei, M., Hosaka, M., and Oomori, Y. (2001).** *In vitro* method for prediction of the phototoxic potentials of fluoroquinolones. *Toxicology InVITRO*, 15: 721-727.

**Yougbaré-Ziébrou, M.N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., Sawadogo, W.R., et Guissou, I.P. (2016).** Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis Pichon* (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14: 213–219.

**Z**

**Zieliński, H., Zielińska, D., and Kostyra H. (2012).** Antioxidant capacity of a new crispy type food products determined by up dated analytical strategies. *Food Chem*, 130: 1098- 1104.

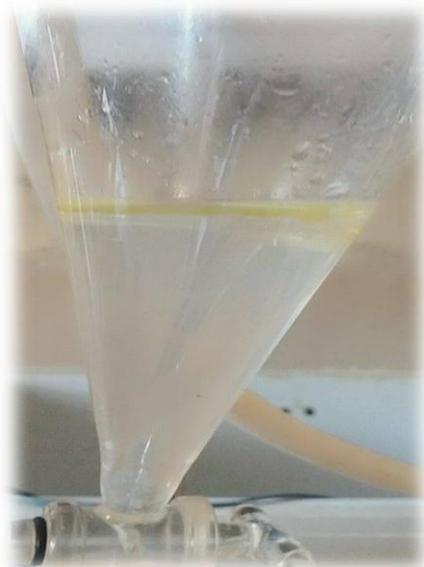




# *ANNEXES*



**Annexe I : Photographies des huiles essentielles extraites par hydrodistillation**



**Annexe 1 :** Extraction de l'HE de *R.officinalis*



**Annexe 2 :** Extraction de l'HE d'*O.glandulosum*

**Annexe II: Test DPPH**

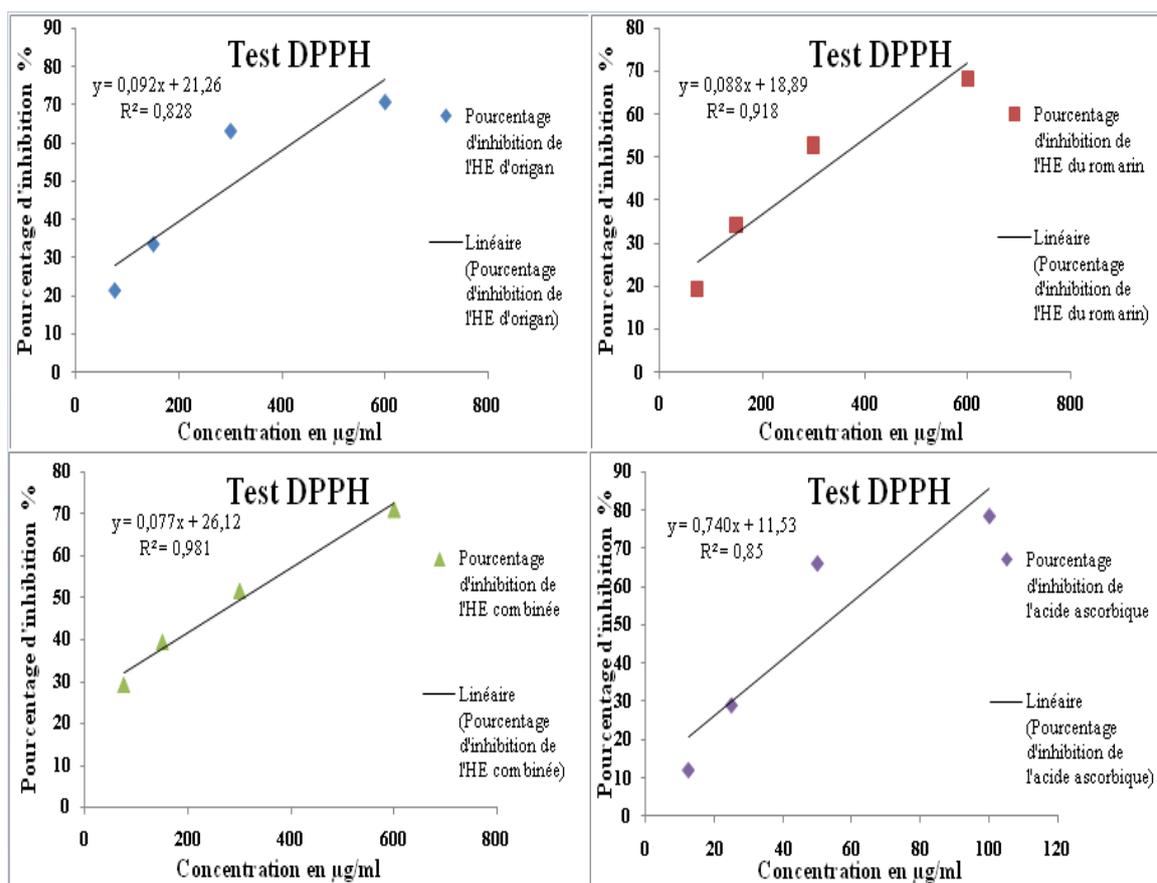


HE combinée

HE Romarin

HE d'origan

**Annexe 1 :** Résultats du test DPPH pour les HEs analysées



Annexe 2 : Courbes de regression linéaires pour le standard et les HES analysées.

```
[Previously saved workspace restored]
> local({fn<-choose.files(filters=Filters[c('R','txt','All')],index=4)
+ file.show(fn,header=fn,title='')})
> x <- read.csv2 (file.choose())
> x
  pourcentage echantillons
1          71.1          ech1
2          51.6          ech1
3          39.3          ech1
4          29.1          ech1
5          68.3          ech2
6          52.9          ech2
7          34.3          ech2
8          19.3          ech2
9          70.7          ech3
10         63.1          ech3
11         33.5          ech3
12         21.3          ech3
> y <- aov(pourcentage ~ echantillons , data=x)
> summary (y)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
echantillons  2     39    19.3    0.043  0.958
Residuals    9   4016   446.3
> TukeyHSD(y)
  Tukey multiple comparisons of means
  95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pourcentage ~ echantillons, data = x)

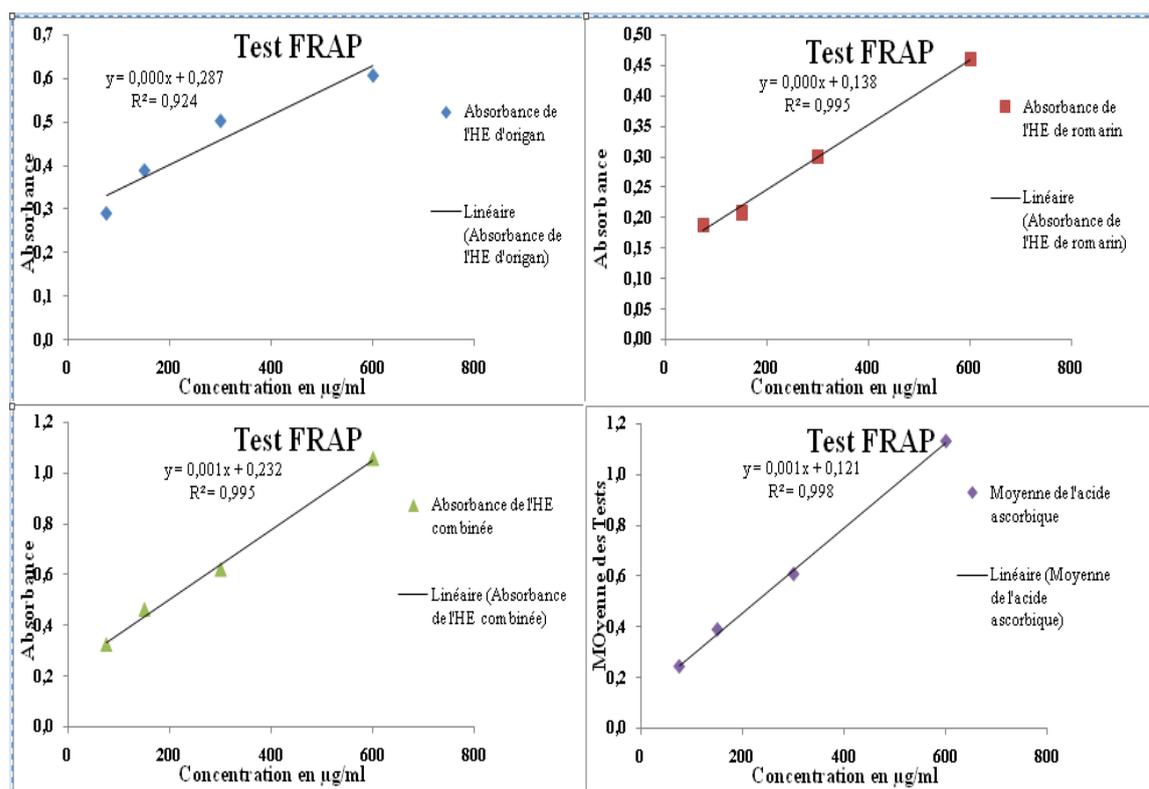
$echantillons
      diff      lwr      upr      p adj
ech2-ech1 -4.075 -45.78067  37.63067  0.9599856
ech3-ech1 -0.625 -42.33067  41.08067  0.9990354
ech3-ech2  3.450 -38.25567  45.15567  0.9711153
> |
```

Annexe 3 : Résultat de l'étude statistique pour le test DPPH

## Annexe III : Test du pouvoir réducteur



Annexe 1 : Résultats du test du pouvoir réducteur pour les HEs analysées



Annexe 2 : Courbes de regression linéaires pour le standard et les HEs analysées

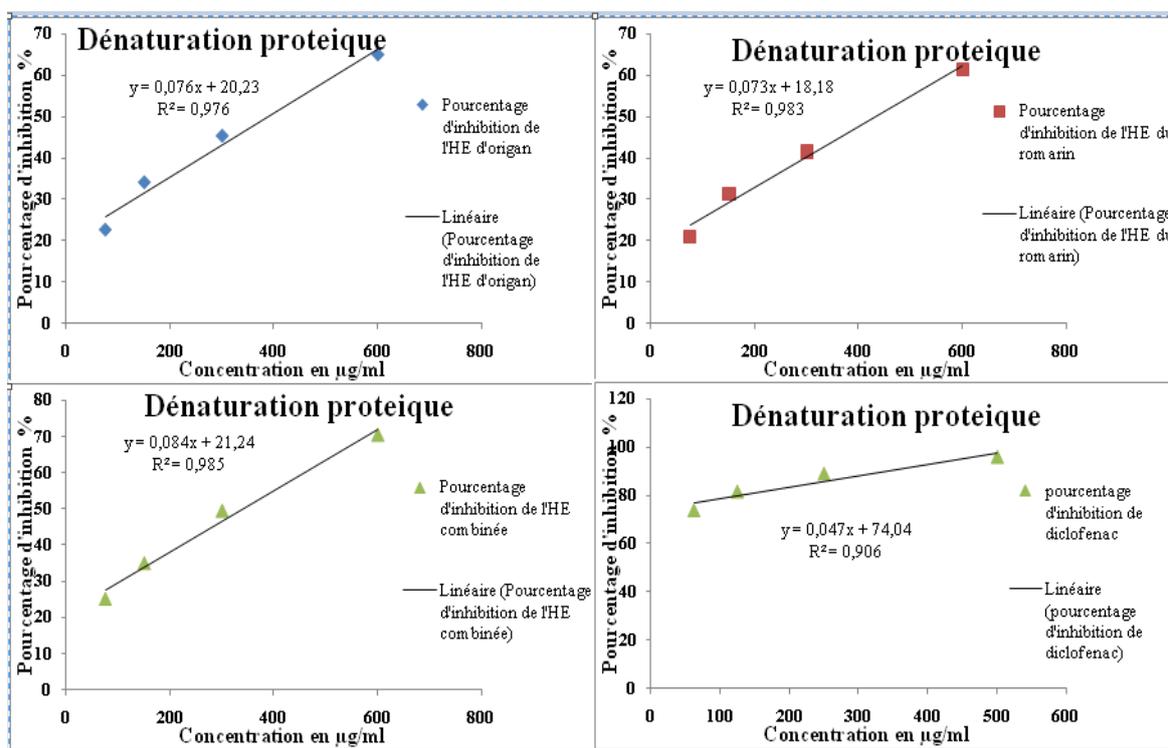
```
[Previously saved workspace restored]
> local ((fn<-choose.files(filters=Filters[c('R','txt','All')],index=4)
+ file.show(fn,header=fn,title=''))))
> x <- read.csv2(file.choose())
> x
  moyenne echantillons
1      1.058          ech1
2      0.621          ech1
3      0.463          ech1
4      0.324          ech1
5      0.459          ech2
6      0.300          ech2
7      0.207          ech2
8      0.187          ech2
9      0.606          ech3
10     0.502          ech3
11     0.389          ech3
12     0.290          ech3
> y <- aov(moyenne ~ echantillons, data=x)
> summary(y)
          Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
echantillons  2  0.2156  0.10779   2.386  0.147
Residuals    9  0.4065  0.04517
> TukeyHSD(y)
  Tukey multiple comparisons of means
  95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = moyenne ~ echantillons, data = x)

$echantillons
      diff      lwr      upr      p adj
ech2-ech1 -0.32825 -0.7478394  0.09133936  0.1275846
ech3-ech1 -0.16975 -0.5893394  0.24983936  0.5210690
ech3-ech2  0.15850 -0.2610894  0.57808936  0.5635000
```

Annexe 3 : Résultat de l'étude statistique pour le test du pouvoir réducteur

## Annexe IV : Test de dénaturation protéique



Annexe 1 : Courbes de regression linéaires pour le standard et les HEs analysées

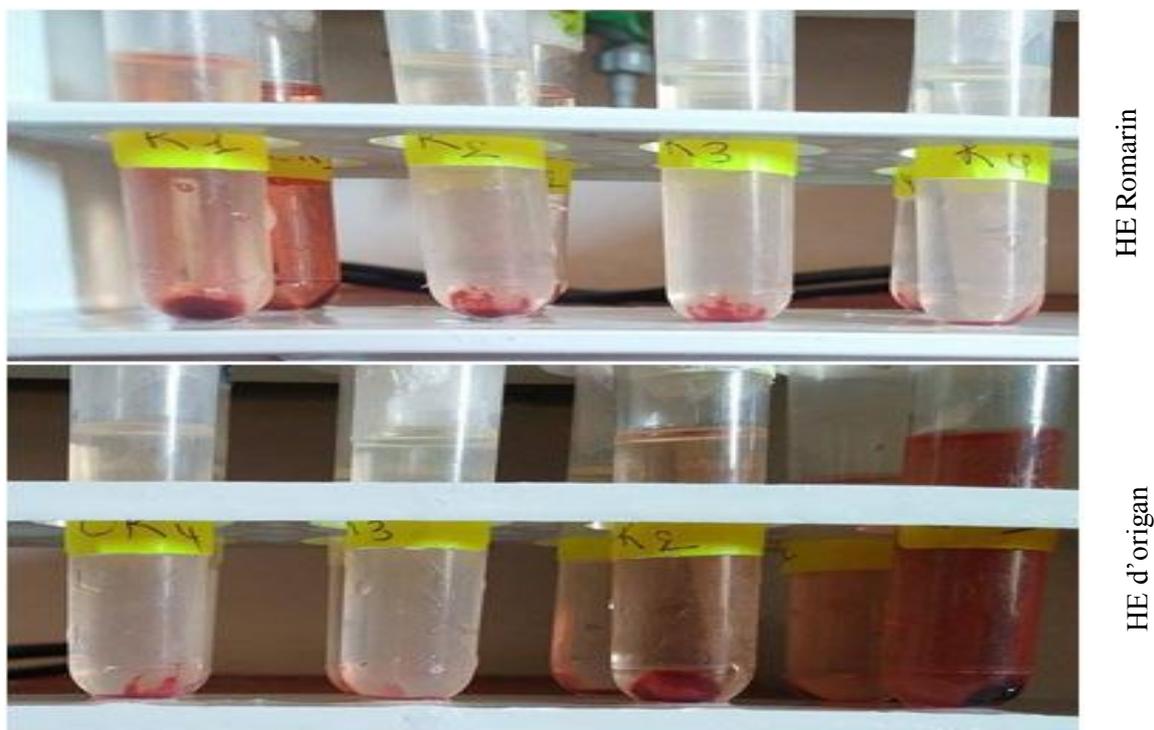
```
[Previously saved workspace restored]
> local({fn<-choose.files(filters=Filters[c('R','txt','All')],,index=4)
+ file.show(fn,header=fn,title='')})
> x <- read.csv2(file.choose())
> x
  pourcentage echantillons
1          68.60          ech1
2          45.94          ech1
3          30.37          ech1
4          19.74          ech1
5          58.73          ech2
6          37.46          ech2
7          26.58          ech2
8          15.44          ech2
9          62.53          ech3
10         41.51          ech3
11         29.49          ech3
12         17.21          ech3
> y <- aov(pourcentage ~ echantillons, data=x)
> summary(y)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
echantillons  2     87    43.7   0.113  0.895
Residuals    9   3491   387.9
> TukeyHSD(y)
  Tukey multiple comparisons of means
  95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pourcentage ~ echantillons, data = x)

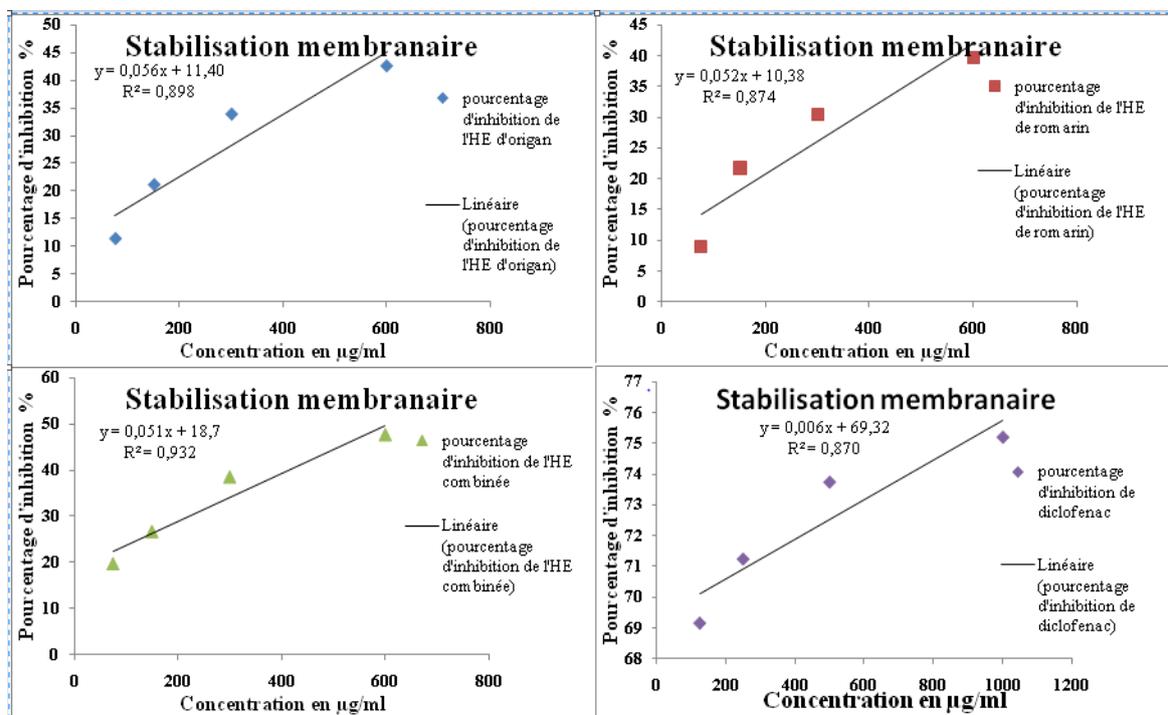
$echantillons
      diff       lwr       upr      p adj
ech2-ech1 -6.6100 -45.4936  32.2736  0.8847532
ech3-ech1 -3.4775 -42.3611  35.4061  0.9663404
ech3-ech2  3.1325 -35.7511  42.0161  0.9725798
```

Annexe 2 : Résultat de l'étude statistique pour le test de la dénaturation protéique

## Annexe V : Test de stabilisation membranaire



Annexe 1 : Résultats du test de l'hémolyse hypotonique pour les HEs analysées



Annexe 2 : Courbes de regression linéaires pour le standard et les HEs analysées.

```

> local({fn<-choose.files(filters=Filters[c('R','txt','All')],index=4)
+ file.show(fn,header=fn,title='')})
> x <- read.csv2 (file.choose())
> x
  pourcentage echantillons
1          42.70          ech1
2          33.95          ech1
3          21.14          ech1
4          11.35          ech1
5          39.58          ech2
6          30.41          ech2
7          21.66          ech2
8           8.95          ech2
9          47.81          ech3
10         38.81          ech3
11         26.77          ech3
12         19.79          ech3
> y <- aov(pourcentage ~ echantillons , data=x)
> summary (y)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
echantillons  2  142.7    71.35   0.414  0.673
Residuals    9 1550.3   172.26
> TukeyHSD(y)
  Tukey multiple comparisons of means
  95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pourcentage ~ echantillons, data = x)

$echantillons
      diff      lwr      upr      p adj
ech2-ech1 -2.135 -28.04625 23.77625 0.9713384
ech3-ech1  6.010 -19.90125 31.92125 0.7983201
ech3-ech2  8.145 -17.76625 34.05625 0.6669034

```

**Annexe 3 :** Résultat de l'étude statistique pour le test de la stabilisation membranaire

## Résumé

*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* sont deux plantes médicinales largement répandues dans la région de Bejaia. Elles sont utilisées en phytothérapie pour leurs activités antioxydante et anti-inflammatoire, car elles sont riches en huiles essentielles, ce qui justifie leurs choix dans cette étude. L'activité antioxydante des différentes concentrations des HEs extraites par hydrodistillation a été mesurée par le radical DPPH. L'effet de ce dernier a donné avec l'HE combinée ( $IC_{50} = 306.09 \mu\text{g/ml}$ ). Le test du pouvoir réducteur indique que cette activité est proportionnelle à la concentration, l'origan ayant une forte capacité réductrice que le romarin. Toutefois, ce sont les antioxydants de références qui ont un plus grand effet que les HEs des deux plantes. Pour l'activité anti-inflammatoire, une importante inhibition de la dénaturation à  $600 \mu\text{g/ml}$  et une réduction de l'hémolyse sont avérées.

**Mots clés :** *Origanum glandulosum*, *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, antioxydant, anti-inflammatoire.

## Abstract

*Origanum glandulosum* and *Rosmarinus officinalis* are a wide spread plants in the Bejaia region. They are used in phototherapy for their antioxidant and anti-inflammatory activities because they are rich in essential oils, which justify their choices in this study. The antioxidant activity of the various concentrations of HEs extracted by hydrodistillation was measured by the DPPH radical. The effect of the latter with the combined EOs has given ( $IC_{50} = 306.09 \mu\text{g} / \text{ml}$ ). The reducing power test indicates that, this activity is proportional to the concentration, oregano having a strong reducing capacity than rosemary. However, the reference antioxidants are more effective than EOs. For the anti-inflammatory activity, a significant inhibition of denaturation at  $600 \mu\text{g} / \text{ml}$  and a reduction in hemolysis are found.

**Key words:** *Origanum glandulosum*, *Rosmarinus officinalis*, essential oil, antioxidant, anti-inflammatory.

## ملخص

الزعتر و إكليل الجبل نباتات طبية واسعة الانتشار في بجاية، تستعملان في التدوية بالأعشاب لفضل فعاليتها لمضادات الأكسدة و الأنشطة المضادة للالتهابات، كما أنها غنية بالزيوت الأساسية و هذا ما يبرر استعمالها في هذه الدراسة. إن الفعالية ضد الأكسدة لمختلف تراكيز الزيوت الأساسية المستخلصة بطريقة التقطير المائي، مقاسة بالجزر الحر DPPH تأثير هذا الأخير، أعطى مع الزيت المزدوج مفعول يقدر ب (  $IC_{50} = 306,09 \mu\text{g} / \text{ml}$  ) تجربة القوة المرجعية بينت أن هذه الفعالية تتناسب طرديا مع التركيز؛ نبتة الزعتر أعطت قوة مرجعية أفضل من نبتة الإكليل، غير أ، مضادات الأكسدة الطبيعية أعطت مفعولا أكبر من الزيوت النباتية بالنسبة للنشاط مضاد الالتهابات، تم العثور على تثبيط كبير عند التركيز  $600 \mu\text{g/ml}$  و الحد من انحلال الدم.

**الكلمات الرئيسية :** الزعتر، إكليل الجبل، الزيوت الأساسية، مضاد الأكسدة، مضاد الالتهابات