

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohammed El Bachir El Ibrahim B.B.A
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine : des Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Intitulé :

Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques
de l'extrait méthanolique d'une plante médicinale.

Présenté par : BOUNOUA Asma et DJOUDI Yamina

Soutenu le 6 / 7 / 2022, Devant le Jury:

Président :	Mme. FELLAH Fahima	MCA	Faculté SNV-STU, Univ.de B.B.A.
Encadrant :	Mme. BOUMERFEG Sabah	Pr	Faculté SNV-STU, Univ.de B.B.A
Examineur :	Mme GUERGOUR Hassina	MCA	Faculté SNV-STU, Univ.de B.B.A

Année universitaire : 2021 – 2022

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah pour nous avoir donné la force, la santé, le courage et la volonté d'accomplir ce travail.

Nous remercions Dr Fahima FELLAH de nous faire l'honneur d'être la présidente de jury de cette soutenance.

Nos remerciements s'adressent en particulier à notre promotrice Pr. BOUMERFEG Sabah qui a accepté de nous encadrer malgré ses multiples tâches scientifiques et pédagogiques, qui nous a suivis conseillé, orienté de manière judicieuse pour la réalisation de ce travail.

Nous remercions aussi, Dr Hassina GUERGOUR de nous faire l'honneur d'être membre de jury de cette soutenance.

Nous remercions toutes les personnes qui ont accepté de répondre à nos questions et sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour.

On tient à remercier sincèrement Dr. Sara Chadi pour son aïd, ses encouragements et ses conseils judicieux.

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique université Bordj Bou Arreridj, Il n'aurait pu être mené à bien sans l'aide, la patience et le soutien de nombreuses personnes auxquelles nous adressons tous nos remerciements.

Un grand merci également à toute l'équipe pédagogique de l'université de Bordj Bou Arreridj et les intervenants professionnels responsables de notre formation.

Nous remercions également nos familles qui nous ont aidées, encouragées et soutenus tout au long de la préparation de ce mémoire.

Dédicaces

Avant tout je remercie Dieu le tout puissant de m' avoir donné
la force d' accomplir ce travail et de le mener jusqu' au bout.

À mes chers parents qui ont toujours été présent durant tout le
parcours de ma vie et de mes études.

À mes chers cousins Mohammed, Anes, Alaa, Baraa et
Meriem.

À mes chères sœurs « Samira », « Hanene », « Wafa », «
Rahima », « Bouchra » et leurs époux.

À toute mes amies et à toutes personnes qui m' ont entouré,
encouragé ou aidé au long de mes études

Yamina

Dédicaces

Je dédie ce travail ;

À ma chère maman

*Pour toutes les peines que tu as endurées en m'accompagnant
durant ce long parcours, je ne peux qu'exprimer ma gratitude
absolue.*

À mon cher père.

Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

*À mon soutien moral et source de bonheur,
mon mari pour l'encouragement et l'aide qu'il m'a toujours
accordé,*

*À la lumière de mes jours
mes chers enfants*

*Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les
personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours,
C'est avec amour, respect et gratitude que je dédie ce travail*

Asma

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

PARTIE I : BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction	01
1. La médecine traditionnelle	03
1.1. La phytothérapie.....	03
1.1.1. Les préparations à base de plante.....	03
2. Les plantes médicinales	04
2.1. Phytochimie des plantes médicinales	04
2.1.1. Composés phénoliques.....	04
2.2. Activités biologiques des plantes médicinales	06
2.2.1. Activité antioxydante.....	06
2.2.2. Activité antimicrobienne	07
3. Présentation botanique de l'<i>Origanum vulgare L.</i>	
3.1. Etymologie	08
3.2. Ecologie de l'Origan.....	08
3.3. Description botanique.....	09
3.4. Systématique.....	09
3.5. Usage traditionnel.....	10
4. Généralités sur l'ethnobotanique	10
4.1. Objectif de l'ethnobotanique.....	10
4.2. Enquête ethnobotanique.....	11
I. Matériel et méthodes	12
I.1. Partie terrain	12
I.1.1. Réalisation du questionnaire.....	12
I.1.2. Description de la zone d'étude.....	12
I.1.3. Traitement des données.....	13
I.2. Partie laboratoire	13
I.2.1. Etude phytochimique et activités biologiques.....	13
I.2.1.1. Matériel végétal.....	13
I.2.1.2. Les souches bactériennes testées.....	13
I.2.2. Méthodes.....	14
I.2.2.1. Extraction.....	14
I.2.3. Analyse phytochimiques.....	15
I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	15

I.2.3.2. Dosage des Flavonoïdes.....	15
I.2.3.3. Etude de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	16
I.2.3.3.1. Test de piégeage du radical DPPH.....	16
I.2.3.4. Activité antibactérienne.....	16
I.3 Analyses statistiques	18
II. Résultats et discussion	19
II.1. Etude ethnobotanique	19
II.1.1. Description de la population.....	19
II.1.1.1. Répartition selon le sexe.....	19
II.1.1.2. Répartition selon la tranche d'âge.....	20
II.1.1.3. Répartition selon le niveau d'étude.....	20
II.1.1.4. Situation familiale.....	21
II.1.1.5. Origine de la population.....	21
II.1.1.6. Niveau socio-économique (NSE)	22
II.1.1.7. Source de l'information sur la plante utilisée.....	22
II.1.1.8. Satisfaction des utilisateurs.....	23
II.1.1.9. Raison de la phytothérapie.....	23
II.1.1.10. Les parties de la plantes utilisées.....	24
II.1.1.11. Mode opératoire.....	25
II.1.1.12. Les pathologies traitées par la plante.....	25
II.2 Etude phytochimique et activités biologiques	26
II.2.1. Extraction des composés phénoliques.....	26
II.2.2. Caractérisation phytochimique.....	27
II.2.2.1. Dosage de polyphénols totaux.....	27
II.2.2.2. Dosage de Flavonoïdes.....	28
II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	29
II.2.3.1. Test de piégeage du radical DPPH.....	29
II.2.4. L'activité antibactérienne.....	31
Conclusion et Perspectives	34
Références bibliographiques	36
Annexes	

Résumé

L'Origanum vulgare L connus sous le nom zaâter, est une plante médicinale largement utilisées dans la médecine traditionnelle Algérienne. Ce travail a pour objectif de valoriser cette plante en vue de découvrir de nouveaux principes actifs thérapeutiques. Afin d'acquérir le maximum d'information sur les usages de l'origan dans la médecine traditionnelle, une étude ethnobotanique a été menée auprès d'une population dans la région de BBA et de Sétif. L'analyse des résultats obtenus montre que la population locale utilise les rameaux de feuilles pour traiter certains nombres de pathologies tels que ; les maladies respiratoires, digestives, rhumatismales, dermatologiques et les affections ORL. Les modes de préparation les plus employés sont l'infusion, macération et la décoction. Cette étude constitue une base de données pour la valorisation de cette plante en laboratoire. Dans cette optique l'extraction méthanolique des composés phénoliques de l'origan a été réalisée par macération avec un rendement d'extraction de 12.9 %. La teneur totale en polyphénol et en flavonoïdes a été déterminée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium, les résultats ont montré que l'extrait brut de *Origanum vulgare L* est riche en polyphénols et en flavonoïdes ($217,708 \pm 0,01$ mg EAG/g $6,61 \pm 0,08$ mg EQ/gE respectivement). Les résultats d'activité antioxydante *in vitro* utilisant le test de DPPH ont démontré que l'extrait brut exerce une activité antiradicalaire puissante avec une IC_{50} de $27,39 \pm 1,4$ μ g/ml. D'autre part, l'activité antibactérienne a été estimée par la technique de diffusion sur gélose par puits contre trois souches bactériennes, où l'activité maximale est enregistrée vis-à-vis gram-négative *Pseudomonas aeruginosa* et un effet modéré contre *Staphylococcus aureus* cependant aucune activité n'a été détectée contre *Escherichia coli*. A la lumière de ces résultats obtenus à partir du questionnaire établi et le travail en laboratoire le recours à la médecine traditionnelle est largement répondu, l'utilisation conventionnelle de cette plante peut être rationalisée en raison de leur richesse en composants actifs.

Mots clés : *L'Origanum vulgare L*, Polyphénols, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, Etude ethnobotanique, Phytothérapie.

Abstract

Origanum vulgare L known as Zaater, is a medicinal plant widely used in traditional Algerian medicine. This work aims to enhance this plant in order to discover new therapeutic active components. In order to acquire the maximum of information on the uses of oregano in the traditional medicine, an ethnobotanical study was carried out with the population in the regions of BBA and Setif. The analysis of the obtained results shows that the local population uses the branches of leaves to treat certain number of pathology such as; respiratory, digestive, rheumatic, dermatological diseases and the ORL affections. The most employed preparation modes are infusion, maceration and decoction. This study is a data base for the valorization of this plant in laboratory. In this context, the methnolic extraction of the oregano phenolic compounds was carried out by maceration with an extraction yield of 12.9%. The total polyphenol and flavonoid content was determined by Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride colorimetric method. The results demonstrated that *Origanum vulgare* L crude extract is rich in polyphenols and flavonoids (217.708 ± 0.01 mg EAG/g $6.61 \pm$ and 0.08 mg EQ/gE respectively). The *in vitro* antioxidant activity results using DPPH assay revealed that the crude extract exerts a potent antiradical activity with an IC_{50} of 27.39 ± 1.4 μ g/ml. On the other hand, the antibacterial activity was estimated by agar diffusion technique per well against three bacterial strains, where the maximum activity is recorded against gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* and a moderate effect against *Staphylococcus aureus* however no activity was detected against *Escherichia coli*. In the light of the obtained results from the established questionnaire and laboratory work, the use of traditional medicine has become widespread, so the conventional use of this plant can be rationalized due to their richness in active components.

Key words : *Origanum vulgare* L, Polyphenols, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Ethnobotanical study, Phytotherapy

ملخص

Origanum vulgare L المعروف باسم الزعتر، هو نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي. يهدف هذا العمل إلى تثمين هذا النبات من أجل اكتشاف مكونات علاجية نشطة جديدة. للحصول على أقصى قدر من المعلومات حول استخدامات الزعتر في الطب التقليدي، تم إجراء استبيان حول استعمال النبات مع سكان المناطق في كل من برج بوعريريج وسطيف. بين تحليل النتائج المحصل عليها أن السكان المحليين يستخدمون فروع الأوراق لعلاج عدد الأمراض مثل؛ الأمراض التنفسية والهضمية والروماتيزمية والجلدية وأمراض الأنف والأذن والحنجرة. ان طرق التحضير الأكثر استخدامًا هي التسريب والنقع والمغلي. تمثل هذه الدراسة قاعدة بيانات لتثمين هذا النبات في المختبر. في هذا السياق تم إجراء الاستخلاص الميثانولي للمركبات الفينولية للزعتر عن طريق النقع حيث كان المردود مساو لـ 12.9%. تم تحديد المحتوى الإجمالي لعديدات الفنول والفلافونويدات بطرق القياس الطيفية، طريقة Folin-Ciocalteu وطريقة ثلاثي كلوريد الألومنيوم ، وأظهرت النتائج أن المستخلص الخام من *Origanum vulgare L* غني بعديدات الفنول والفلافونويد (0.01 ± 217.708 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك /مغ مستخلص و 0.08 ± 6.61 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين /مغ مستخلص على التوالي). كما بينت نتائج النشاطية المضادة للأكسدة في المختبر باستخدام اختبار ازالة الجذر الحر DPPH أن للمستخلص الخام نشاطًا قويًا مضادًا للتأكسد ب IC_{50} تساوي 1.4 ± 27.39 ميكروغرام / مل. من ناحية أخرى، تم تقدير النشاط المضاد للبكتيريا بتقنية طريقة الانتشار على الأجار ضد ثلاث سلالات بكتيرية ، حيث تم تسجيل أقصى نشاط ضد *Pseudomonas aeruginosa* سالبة الجرام وتأثير معتدل ضد *S. aureus* ولكن لم يلاحظ أي نشاط ضد *E. coli*. على ضوء هاته النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الاستبيان والعمل المخبري، لوحظ العودة بشكل كبير الى استخدام الطب التقليدي لذا يمكن ترشيد الاستخدام التقليدي لهذا النبات لثرائه بالمكونات النشطة.

الكلمات المفتاحية: *Origanum vulgare L* ، عديدات الفينول ، النشاطية المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للجراثيم ، علم الاعراق النباتية ، التداوي بالأعشاب الطبية

Liste des Abréviations

ATCC : American type culture collection

CI50 : Concentration inhibitrice 50 %.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

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

EAG: Equivalent en acide gallique.

EQ : Equivalent en quercétine.

HE : Huiles essentiels.

m/m : Masse par masse.

NSE : Niveau socio-économique.

PM : Plante médicinale.

R²: Coefficient de corrélation.

ROS : Reactive oxygen species

SOD : superoxyde dismutase

Liste des Figures

Figure 01 : Origine de différentes espèces réactives de l'oxygène	06
Figure 02 : l' <i>Origanum vulgare</i> .L.....	09
Figure 03 : Protocole de préparation d'extrait méthanolique d' <i>Origanum vulgare</i>	14
Figure 04 : Répartition selon le sexe.....	19
Figure 05 : Répartition selon la tranche d'âge.....	20
Figure 06 : Répartition d la population selon le niveau d'étude.....	20
Figure 07 : Répartition de la population selon la situation familiale.....	21
Figure 08 : Répartition de la population selon l'origine.....	21
Figure 09 : Répartition de la population selon le niveau socio-économique (NSE).....	22
Figure 10 : Répartition selon la source de l'information sur la plante utilisée.....	22
Figure 11 : Répartition selon la Satisfaction des utilisateurs	23
Figure 12 : Répartition selon la raison de phytothérapie.....	24
Figure 13 : Répartition selon les parties de plante utilisées.....	24
Figure 14 : Répartition selon les Techniques de préparation.....	25
Figure 15 : Répartition selon les maladies traitées par la plante étudiée.....	25
Figure 16 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	27
Figure 17 : courbe d'étalonnage de la Quercétine.....	28
Figure 18 : Activité antiradicalaire d'extrait d' <i>O. vulgare</i> et le standard (vit C).....	30

Liste des Tableaux

Tableau I : Diamètre (mm) des zones d'inhibition de l'extrait, de DMSO et **31** d'antibiotique

Introduction

L'homme a toujours cherché à se servir des plantes pour assurer sa survie et à en tirer des remèdes pour soigner ses maladies. Il a appris à discerner les propriétés des plantes, leurs vertus et leur toxicité. De génération en génération, nos ancêtres ont transmis leur savoir et leurs expériences simples oralement et en s'efforçant quand ils le pouvaient de les consigner par écrit.

Actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médicamenteux moderne, du fait de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins et surtout au coût abordable (Tabuti *et al.*, 2003). Dans les pays développés, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les plantes médicinales seraient la meilleure source pour obtenir une variété de médicaments efficaces et moins nocifs, et aussi une bonne solution contre la diminution de l'efficacité des médicaments et des antibiotiques synthétiques en plus, de leurs effets secondaires inquiétants. (Tawfeeq et Akrayi, 2012),

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropical, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques (Quezel & Santa, 1963). Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles.

Parmi cette végétation, on trouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatization des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales. Ces plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotique et abiotique qu'elles peuvent subir tel que les huiles essentielles, l'alcaloïde et les polyphénols..., qui possèdent diverses propriétés et activités biologiques.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé à une espèce de la famille des lamiacées, qui est "*l'Origanum vulgareL.*" provenant de la région d'El Achir commune de la wilaya de Bordj-bou-arrerdj, cette plante est très utilisée en médecine traditionnelle par la population locale.

Pour cela un travail de terrain est effectué dans le but à mener une enquête ethnobotanique auprès des tradipraticiens, des herboristes et des individus vivant en contact avec les plantes médicinales.

Ce travail s'articulera sur deux parties distinctes ;

Une partie bibliographique qui comporte trois chapitres porteront respectivement sur :

- ✓ La médecine traditionnelle
- ✓ Les plantes médicinales
- ✓ Présentation botanique de *l'Origanum vulgare* L

Une partie expérimentale comportant deux chapitres le premier traitera les matériels utilisés et les méthodes adoptées dans les différentes études, le deuxième chapitre traitera les résultats obtenus qui feront l'objet d'une interprétation et d'une confrontation avec ceux des travaux précédemment publiés. Enfin une conclusion générale avec proposition de quelques perspectives.

1. La médecine traditionnelle

Selon l'OMS « La médecine traditionnelle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales ». En Afrique, plus de 80% de la population à recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire (Pehlivanian, 2012).

1.1. La phytothérapie

La phytothérapie désigne le traitement thérapeutique fondé sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels, dans le but de guérir, soulager ou prévenir une maladie. C'est une pratique traditionnelle parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon les vertus découvertes empiriquement. (Dutertre, 2011).

1.1.1. Les préparations à base de plante

1.1.1.1. Infusion

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement bouillant. Le solvant n'est pas nécessairement de l'eau, il peut être également une huile ou un alcool. C'est la préparation la plus connue. Elle se fait généralement avec les parties fragiles de la plante (fleurs et feuilles), mais dans certains cas, il est possible de faire également infuser des racines et des écorces. Elle concerne surtout les plantes à essences volatiles dont un long chauffage risque de causer une grande perte par évaporation (Nogar et Ehrhart, 2003).

1.1.1.2. Décoction

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs et/ou des arômes d'une préparation généralement végétale par dissolution dans l'eau en ébullition. Elle s'applique aux parties les plus dures des plantes : racines, graines, écorce, bois. La durée d'ébullition varie de quelques minutes à des temps plus longs (Perotto, 2013).

1.1.1.3. Macération

La macération consiste à faire tremper une ou plusieurs parties de la plante dans un liquide pour en extraire et conserver des arômes et/ou des parfums et certaines autres propriétés pendant plusieurs heures (Nogaret *et al.*, 2003). Les plantes peuvent également macérer dans l'alcool, dans la glycérine, ou dans un autre solvant qui retient les principes actifs de la plante. Il convient de bien sélectionner le solvant en fonction de la plante que l'on utilise (Nogaret *et al.*, 2003)

1.1.1.4. Poudre totale

Contrairement à l'extrait sec, la poudre totale d'une plante ne subit aucun traitement chimique et représente la forme galénique la plus proche d'elle à l'état naturel. Elle obtenue par broyage ou cryobroyage suivie d'un tamisage. Cette poudre peut être conditionnée, par la suite, sous forme de gélules. C'est ce qui correspond aux phytomédicaments, elles servent aussi à la fabrication d'autres formes galéniques comme les extraits et les teintures (Sebai, 2012).

2. Les plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, voire animale. Selon la pharmacopée britannique 2013, les plantes médicinales sont principalement des plantes entières, fragmentées ou brisées, des algues, des champignons ou des lichens, non transformés, généralement sous forme séchées mais parfois fraîches. Les médicaments à base de plantes sont précisément définis par le nom scientifique botanique selon le système binominal (genre, espèce variété et auteur » (British pharmacopoeia, 2013). L'approche scientifique des plantes médicinales, avec les études pharmacologiques et toxicologiques, a permis de décrypter leur composition chimique, de mettre en évidence les effets thérapeutiques ou encore de déterminer les doses thérapeutiques ou toxiques de certaines plantes (Claire Laurent-Berthoud, 2013).

2.1. Phytochimie des plantes médicinales

2.1.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques spécifique du règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour interagir avec les autres végétaux et les animaux (Bravo, 1998). Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés dans le règne végétal, on compte, pas loin de 8000 composés (Bravo, 1998 ; Mompon *et al*, 1998).

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique. Cette voie shikimate est à l'origine de la formation des acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) dont la désamination conduit à la formation des acides cinnamiques et *p*-coumarique et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïque, acétophénone, lignanes, lignines et coumarines (Bruneton, 1993).

Les polyphénols sont majoritairement présents dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles et les écorces de bois de tous les végétaux (Boizot et Charpentier, 2006). Les principales sources alimentaires sont les fruits et les légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et les légumes contribuent environ à la moitié de notre apport en polyphénols. Les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportent le reste (Middleton et al, 2000).

2.1.1.1. Principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes dont la plupart ont des représentants chez de nombreux végétaux. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette carbone (Macheix, 1996).

Les flavonoïdes représentent la famille la plus importante des polyphénols avec plus de 10000 composés appartenant à plus de 10 classes dont les principales sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes. Les flavonoïdes sont caractérisés par une structure de base à 15 atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6. Les classes diffèrent entre elles par la structure et le degré d'oxydation de l'hétérocycle central (cycle C), ainsi que par la nature de ses connexions avec les cycles A (Agati et *al.*, 2012).

2.1.2. Alcaloïdes

Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe : leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative, pour certains auteurs, ils sont bio-synthétiquement formés à partir d'un acide aminé. Ces éléments caractérisent ce que l'on peut appeler les alcaloïdes vrais. Les pseudo-alcaloïdes présentent, le plus souvent, toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Jean Bruneton, 1999)

2.1.3. Terpènes

Les terpènes présentent un vaste groupe de produits naturels largement répandu dans le règne végétal et animal, renfermant des molécules très volatiles. Les terpènes ont une structure de base non aromatique renfermant uniquement du carbone, de l'oxygène ainsi que de l'hydrogène. Tous les terpènes et stéroïdes ont une structure de base non aromatique, ils ont aussi un point commun essentiel formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonnées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène (Jean Bruneton, 1999)

2.2. Activités biologiques des plantes médicinales

2.2.1. Activité antioxydante

2.2.1.1. Stress oxydant

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme *via* la formation de radicaux libres. Les organismes aérobies sont dotés de systèmes métabolisant l'oxygène, qui par sa nature bi-radicalaire, permet des réarrangements électroniques sur son orbite externe le rendant très réactif et par conséquent toxique. Cet oxygène moléculaire est transformé, essentiellement par voie enzymatique, en espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Figure 01). Ces ROS peuvent être aussi formés (voies non-enzymatiques) au cours de l'autoxydation des catécholamines, des quinones et des flavines sous l'effet de facteurs environnementaux. Lorsque le taux des ROS dépasse ses valeurs normales, ils provoquent l'altération oxydative des protéines, des lipides et des acides nucléiques, ainsi que la modulation de l'expression des gènes et de la réponse inflammatoire (Halliwell, 1999). Le stress oxydant donc est définie comme un déséquilibre entre la génération de ROS et les systèmes de défense antioxydant de l'organisme en faveur du premier il peut avoir diverses origines endogènes et exogènes (Benkhaled, 2018).

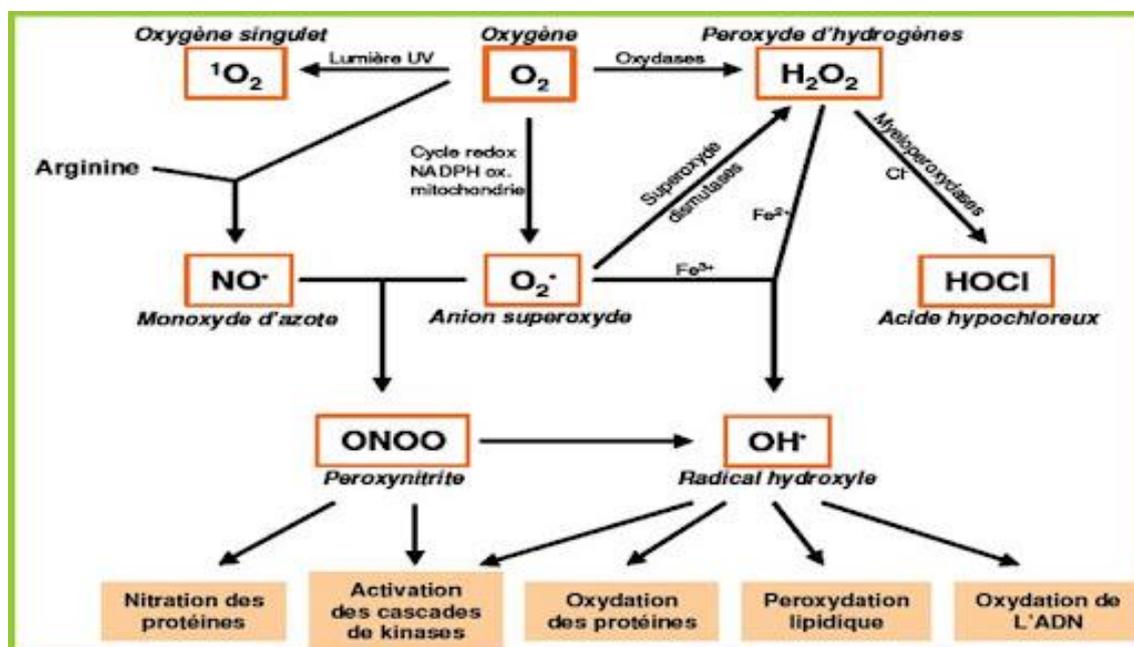


Figure 1 : Origine de différentes espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003)

2.2.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène pour l'empêcher d'exercer leurs effets délétères. On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule :

✚ l'une est apportée par l'alimentation via les fruits et légumes, sources de vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, polyphénols ou acide lipoïque.

✚ l'autre est endogène et se compose de molécules de petite taille (glutathion, acide urique), d'enzymes (SOD, glutathion peroxydase, catalase) ou de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine, protéines de choc thermique, hème oxygénase). A cela s'ajoutent quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certaines enzymes antioxydantes (Favier, 2003 Pincemail *et al.*, 2009).

2.2.2. Activité antimicrobienne

2.2.2.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des substances antibactériennes d'origine biologique, c'est à dire élaborés par des microorganismes (des champignons ou des bactéries) qui sont capables d'inhiber la multiplication ou détruire le microorganisme. Les antibiotiques peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (Yala *et al.*, 2001). Les antibiotiques naturels sont connus pour atteindre la plupart des grandes voies biologiques, mais la majorité d'entre eux transmettent leur effet antibactérien par inhibition de la paroi cellulaire bactérienne et la synthèse des protéines. La seule exception comprend la classe des rifamycines qui inhibent la synthèse de l'ARN (Singh, 2012). Les antibiotiques ont montré des inconvénients et des limites d'utilisation : effets secondaires, toxicité des molécules antimicrobiennes pour l'organisme traité et difficultés rencontrées dans le traitement des maladies exigeant la destruction des germes pathogènes indépendamment des facultés de défense du malade (Siegenthaler et Luthy, 1978).

2.2.2.1. Plantes comme antibiotiques

La rareté des maladies chez les plantes sauvages s'explique par l'élaboration d'un système de défense naturelle, qui leur permet de lutter efficacement contre les pathogènes (bactéries, champignons et virus). L'originalité de ce système de défense réside dans l'exceptionnelle variabilité chimique des molécules produites (Gibbons, 2008). Ces dernières constituent, de par la diversité des groupements structuraux et fonctionnels qu'elles arborent, un vaste réservoir de substances actives. Le spectre d'action des antimicrobiens produits par

les plantes est plus restreint que celui généré par les antibiotiques conventionnels. En effet, ils possèdent une haute activité contre les bactéries à Gram positif, mais demeurent peu actifs contre les bactéries à Gram négatif et les levures (Lewis, 2001).

3. Présentation botanique de l'*Origanum vulgare* L.

3.1. Etymologie

Il existe plusieurs versions sur les origines étymologiques du mot Origanum. La première viendrait du grec ‘ori-ganumai’ qui se plaît dans la montagne, ou ‘ori-ganos’ ; éclat de la montagne (Dubois *et al.*, 2006). Le mot désigne également une plante d’un parfum pénétrant.

L’Origan est reconnu en arabe sous la dénomination de Zaâter. Cependant, il y a lieu de signaler que cette dernière dénomination est peu précise. Le terme Zaâter, englobe en fait diverses plantes aromatiques de la famille des Lamiacées et appartenant à trois genres : Le Thym (*Thymus algeriensis* Desf.), le Saccocalyx (*Saccocalyx satureiodes* Dur.) (Quezel et Santa., 1962-1963) et l’Origan (*Origanum vulgare* sous-espèce *glandulosum* (Desf.) Letswaart (Letswaart., 1980).

Le genre *Origanum* regroupe environ 45 à 50 espèces de plantes herbacées ou de sous-arbrisseaux vivaces et aromatiques de la famille des Lamiacées originaires surtout du bassin méditerranéen. Les deux espèces les plus connues sont l’origan (*Origanum vulgare*) et la marjolaine (*Origanum majorana*).

3.2. Ecologie de l’Origan

L’Origan originaire d’Afrique du Nord. Il colonise les terrains secs et chauds, les broussailles, les garrigues et les pâturages, surtout en montagne (Quezel et Santa, 1962-1963). En outre, l’Origan est essentiel à la protection de l’environnement en zones susceptibles de désertification et sous une précipitation légère contre les risques d’érosion assurant ainsi la couverture végétale.

Selon la flore de Quezel et Santa (1962-1963), en Algérie, l’Origan est représenté par trois espèces : *Origanum majorana* L., *Origanum floribundum* Munby et *Origanum glandulosum* Desf. La première espèce, *Origanum majorana* L. est cultivée et plus ou moins spontanée. Son aire de distribution est l’Europe et la Méditerranée. La deuxième espèce, *Origanum floribundum* Munby est localisée dans l’Atlas Tellien et la grande Kabylie où colonisent les pâturages surtout en montagne. La troisième espèce est plus répandue dans toutes les régions et elle est considérée sur le plan phytogéographique comme plante endémique, c'est-à-dire que l’aire de répartition de cette plante est localisée dans deux pays l’Algérie et la Tunisie.

3.3. Description botanique

L'*Origanum vulgare* L. est une plante vivace et sarmenteuse (**Figure 2**), avec un port sous-arbustif, cette plante forme de touffes de quelques centimètres de diamètre et une hauteur comprise entre 30 à 60cm. Les principaux caractères qui permettent de reconnaître cette plante sont :

Les tiges : toutes dressées, épis denses, à fleurs restant contiguës après floraison. Calice tubuleux à 5 dents courtes, bilabié ou non. Corolle blanche ou rosée, à lèvre supérieure émarginée et à lèvre inférieure trilobée bien longue que la lèvre supérieure (**Quezel et Santa, 1962-1963**).



Figure 2 : l'*Origanum vulgare*.L

3.4. Systématique

La systématique de cette plante est :

- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous classe** : Gamopétales
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiacées ex. Labiées
- **Genre** : *Origanum*
- **Espèce** : *Origanum vulgare* L. (ou *Origanum glandulosum* Desf.)
- **sous-espèce**. *glandulosum* (Desf.) Lets. (Quezel et Santa, 1962-1963).

3.5. Usage traditionnel.

L'usage de l'Origan est bien connu aux propriétés médicinales très intéressantes. Il calme la toux en favorisant l'expectoration, bon stimulant de l'appareil digestif utilisée contre la coqueluche, la toux, la fièvre (Ruberto *et al.*, 2002), le rhume et le rhumatisme (Mahmoudi, 1990). Sous forme d'infusion elle est utilisée pour calmer les coliques, Elle possède des propriétés antiseptiques (Baba Aïssa, 1999). En usage externe, sous forme de lotions ou de pommade, s'emploie sur l'eczéma et remède populaire des douleurs rhumatismales (Sari, 1999). En outre, les espèces d'Origan sont utilisées également comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums (Chiej, 1984), L'*Origanum Glandulosum* est une plante apéritive, expectorante et antispasmodiques .Ses effets sont dus principalement aux tanins et aux substances amères de la plante ainsi qu'à son huile essentielle (Baba Aïssa, 1999).

4. Généralités sur l'ethnobotanique

En chaque végétale herbacé ou arbustif. Les populations locales ont trouvés une utilité, un modèle, un bénéfice quelconque à tirer. Une discipline scientifique s'est naturellement développée dans les sciences humaines pour prendre en compte ce facteur fondamental : c'est l'ethnobotanique (Bouaziz, 2014) Le mot : Ethnobotanique vient du grec « Ethnos » : qui veut dire peuple et « Botanom » : qui veut dire herbe en générale (Aristote). Selon (Porteres, 1961), l'ethnobotanique est une discipline qui étudie les faits d'interrelation entre les sociétés humaines et les plantes. Aussi cette discipline est synonyme d'étude de l'utilisation de ces dernières par les populations primitives et comment ces végétaux se sont distribués (Bourobou, 2013). Tout cela en vue de comprendre et expliquer la naissance et le progrès des civilisations

4.1. Objectif de l'ethnobotanique

L'ethnobotanique permet l'évaluation du savoir des populations locales et leurs relations avec les plantes, elle fournit des éléments qui permettent de mieux comprendre comment les sociétés anciennes ont insérés les plantes médicinales dans leurs milieux naturels (Okafor, 1998). Par voie de conséquence son rôle est d'apporter au monde moderne la connaissance du domaine végétale

L'ethnobotanique englobe de nombreuses objectifs à savoir ;

- Les caractéristiques des plantes (identification, disponibilité, nom, origine.)
- Les utilisations des plantes (parties, motifs, façons, cultures, récoltes et traitements.)
- L'importance de la plante dans l'économie du groupe humain

- L'impact des activités humaines sur les plantes et sur l'environnement végétal.
(Barrau, 1971)

4.2. Enquête ethnobotanique

C'est un outil d'évaluation à des fins d'explications, de comparaison ou de généralisation. Cette étape est la plus intéressante pour la réalisation d'une étude ethnobotanique dont on récolte le maximum d'informations d'utilisation de plantes médicinales connues par la population locale de la région choisie (Bouaziz, 2014).

PARTIE EXPERIMENTAL

I. Matériel et méthodes

Par enquête, on entend le plus souvent la collecte d'informations auprès d'un groupe d'individus. Lorsque les interrogés sont très nombreux on s'adresse à un échantillon représentatif de personne. On parle alors d'enquête par sondage. Le sondage est une méthode expérimentale pour recueillir des informations sur une fraction réduite de la population. L'objectif est ensuite de généraliser à l'ensemble de population ce qui a été trouvé sur la fraction (BRENT, 2001).

Nous avons mis à profit nos déplacements dans la zone d'étude pour faire l'enquête et collecter des échantillons afin de les exploiter dans une étude en laboratoire qui a pour objet de démontrer les activités biologiques de ces derniers.

I.1.Partie terrain

Un travail de terrain destiné à :

- Déterminer la partie de la population soumise à l'enquête
- Détermination de la zone touchée par l'enquête.

I.1.1. Réalisation du questionnaire

L'enquête ethnobotanique a été menée, à l'aide d'un questionnaire (Annexe 1), entre le mois d'Avril et le mois de Juin 2022. Le questionnaire a été axé sur les habitudes thérapeutiques de la population en matière de lutte contre les différentes maladies, le nom local, les organes, la ou les parties de la plante utilisée, les indications thérapeutiques, les méthodes de récolte, les recettes, les modes d'administration, les effets secondaires... etc. Tous les herboristes et les gens interrogés ont été informés sur l'objectif de cette étude. L'enquête a été effectuée auprès des herboristes et des gens adultes, dans plusieurs régions de la wilaya de BBA au nord-est d'Algérie. Une soixantaine d'individus ont été interrogés, chacun a été consulté sur ses connaissances des matériels végétaux et ses données personnelles, notamment le sexe, le niveau académique, l'âge et la situation familiale et son lieu de résidence par rapport à la zone d'étude.

I.1.2. Description de la zone d'étude

Notre étude a été menée dans plusieurs régions de la wilaya de BBA au nord-est d'Algérie (**Annex2**)

- La commune de Medjana au Nord-Ouest de la wilaya de Bordj Bou Arreridj à une distance de 10 Km, l'altitude de la région de Medjana varie entre 800 m et 1668 m.

- La commune d'EL Achir à l'ouest de BBA, avec altitude de 993m
- La commune de Mansoura à l'ouest de BBA, avec altitude de 698m
- La commune d'Elksour au sud de BBA

L'étude est aussi réalisée à la commune d'Ain Roua au Nord-Ouest de la wilaya de Sétif à une distance de 28 Km, avec une altitude de 1500m. Ces communes sont caractérisées par un climat continental froid et humide à l'hiver et sec chaud en été (DGF, 2016).

I.1.3. Traitement des données

Les données enregistrées sur les fiches d'enquêtes ont été ensuite traitées et saisies sur le logiciel Excel. L'analyse des données a fait appel aux méthodes simples des statistiques descriptives. Ainsi, les variables quantitatives et qualitatives sont décrites en utilisant les effectifs et les pourcentages.

I.2. Partie laboratoire

I.2.1. Etude phytochimique et activités biologiques

I.2.1.1. Matériel végétal

La partie aérienne de la plante *Origanum vulgare L.* a été collectée pendant la période printanière à la fin du mois de Mai, juste avant la floraison, à la région Safia Ghissi (Commune d'El Achir) Wilaya de Bordj Bou Arreridj, située au Nord-est de l'Algérie qui se caractérise par un climat semi-aride sec. Le séchage de cette plante a été effectué dans un endroit sec, et à l'abri des rayons solaires, presque de 10 jours en moyenne. Ensuite, il est broyé en poudre fine et conservé dans des flacons en verre opaques. L'identification botanique de l'espèce a été faite par un botaniste à M'sila.

I.2.1.2. Souches bactériennes testées

Pour évaluer l'activité antibactérienne, trois souches ont été sélectionnées :

- Une bactérie (Gram+) : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
- Deux bactéries (Gram-) : *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Ces souches sont conservées à basse température, dans des tubes à visser contenant un milieu nutritif jusqu'à l'utilisation. Le milieu de culture utilisé pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes à différentes concentrations d'extrait méthanolique et l'antibiotique de référence est la gélose Mueller Hinton (MH). L'antibiotique Amoxicilline est servi comme contrôle positif (antibiotique de référence). Ces souches fournies par le laboratoire de biochimie appliquée de Sétif, université Farhat Abbas

I.2.2. Méthodes

I.2.2.1. Extraction

L'extraction est la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handa, 2008).

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste à la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles (Leybros et fremeaux, 1990).

L'opération d'extraction par macération a été effectuée selon la méthode décrite par Mouas et al., (2021). Il consiste à émerger 30g de poudre de l'origanum dans 300 ml de méthanol avec agitation, pendant 24 h à température ambiante. Ensuite, la filtration sur papier filtre et l'évaporation du filtrat qui a été récupéré par un rotavapor à une température de 55°C. L'extrait obtenu, qui représente l'extrait brut (E.Br), a été conservé au 4°C jusqu'à son utilisation (Figure 03).

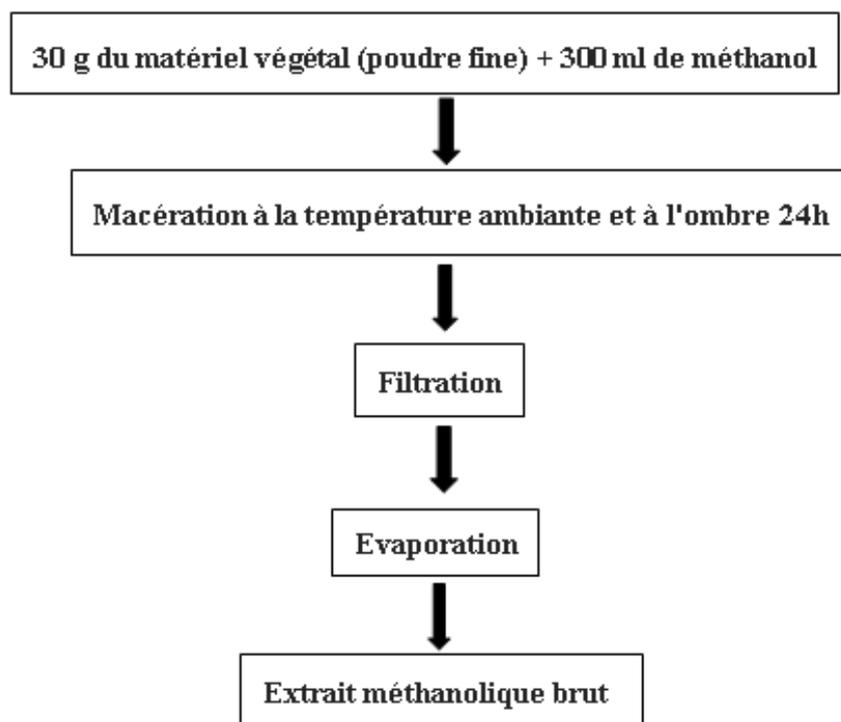


Figure 03: Protocole de préparation d'extrait méthanolique d'*Origanum vulgare*

Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage (%) par rapport a poids sec de la poudre végétale. Et calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 * M \text{ ext} / M \text{ éch}$$

R : est le rendement en %.

M ext: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M éch: est la masse sèche la plante en g (FALLEH et al., 2008).

I.2.3. Analyse phytochimiques

I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le contenu en polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et al. (1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleu constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et al., 2006).

En effet, 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à 0,2 ml d'extrait (1mg/ml) ou standard avec des dilutions convenables, le mélange est incubé pendant 4min. Ensuite 0,8 ml de solution aqueuse de carbonates de sodium (Na_2CO_3 , 7,5 %) est ajouté au mélange, le tout est incubé pendant 90 min à température ambiante et a l'obscurité, l'absorbance est mesuré à 760 nm (Aouachria et al., 2017).

Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant l'acide gallique (5-250 $\mu\text{g/ml}$). La teneur en polyphénols est estimée à partir de l'équation de la régression linéaire de la gamme d'étalonnage établie et les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait).

I.2.3.2. Dosage des Flavonoïdes

L'estimation quantitative des flavonoïdes contenus dans l'extrait de l'origanum, est réalisée suivant une méthode colorimétrique du trichlorure d'aluminium AlCl_3 décrite par Djeridane et al., (2005). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes qui absorbe dans le visible à 430nm.

Le protocole expérimentale consiste a ajouté à 1 ml d'extrait (1mg/ml) un volume égale d' AlCl_3 à 2% (dans le méthanol), le mélange est agité vigoureusement. Puis, l'ensemble est incubé à l'ombre à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est lue à 430nm. Le blanc de test contient l'extrait et le MeOH au lieu d' AlCl_3 .

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard: Quercétine. La teneur en flavonoïde est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait).

I.2.3.3. Etude de l'activité antioxydante *in vitro*

I.2.3.3.1. Test de piégeage du radical DPPH

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH) (Band-William et al., 1995). Ce dernier est un radical libre de couleur violette réduit à la forme d'hydrazine (non radicalaire) avec un couleur jaune, en acceptant un atome d'hydrogène (Meddour et al., 2013). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Le DPPH est solubilisé dans le méthanol (0.1mM), un volume de 1 ml de la solution méthanolique de DPPH est ajouté à 0.5 ml d'extrait ou d'antioxydant standard (acide ascorbique) à différentes concentrations. Après 30 min d'incubation à l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Le blanc contenant le même volume d'extrait en remplaçant le DPPH par le méthanol

Les résultats sont exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (**PI %**) selon l'équation suivante :

$$(\text{PI \%}) = [(\text{Ac} - \text{At}) / \text{Ac}] \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition.

Ac : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance d'extrait ou standard.

L'étude de la variation de l'activité anti-radicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50). Plus la valeur d'IC50 est faible plus que l'extrait est puissant vis-à-vis les radicaux libres.

I.2.3.4. Activité antibactérienne

1.2.3.4.1. Détermination de diamètre d'inhibition (DI)

L'activité antibactérienne de différentes concentrations de l'extrait brut (50µg/ml; 100µg/ml; 200 µg/ml; 300µg/ml) est évalué selon la méthode des puits de diffusion en milieu gélosé (Treki et al. 2009) contre trois souches bactériennes ATCC (deux bactéries à Gram négatif et une souche à Gram positif pathogènes pour l'homme). Cette technique repose sur

l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits contenant l'extrait de la plante dans le milieu de culture des souches bactérienne

1.2.3.4.2. Préparation des dilutions de l'extrait (concentrations)

Pour la préparation d'une solution mère à 300µg/ml d'extrait, 3 mg d'extrait d'Origanum est introduit dans un tube à essai stérile auquel 10 ml de DMSO sont additionnés. Le tube est énergétiquement agité au vortex jusqu'à ce que la solution préparée devienne homogène. Cette solution mère est diluée progressivement dans le DMSO afin de préparer une gamme de solutions ayant des concentrations de 50, 100, 200 et 300µg/ml (Fertout *et al.*, 2016).

1.2.3.4.3. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture (Muller Hinton) est mis à l'autoclavage pendant 15 min à 121°C, puis coulés dans des boîtes pétris stériles à 4 mm de hauteur (qui correspond 20ml de MH), les boîtes sont laissées quelques minutes jusqu'à ce qu'ils solidifient (Harrar, 2012).

1.2.3.4.4. Préparation de l'inoculum

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance. Pour leur réactivation, les souches sont repiquées par méthode des stries sur gélose MH pré-coulée dans des boîtes de pétri puis incubée à 37°C pendant 18 à 24h. Pour préparer l'inoculum, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont prélevées à l'aide d'une anse en platine puis déchargées dans l'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex et sa turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland, soit une densité optique égale à 0,08 à 0,10, lue à une longueur d'onde de 620 nm (Fertout *et al.*, 2016).

1.2.3.4.5. Ensemencement

Dans un milieu stérile, en présence de bec benzène, un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne (pour éviter la contamination du manipulateur et de la paillasse) et essoré en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Ensuite, l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée des boîtes de pétri, sèche, de haut en bas. L'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (Djelloul Daouadii, 2010). Des puits sont induits par perforation de la gélose à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur pour former 5 cavités ou puits. Quatre puits sont remplis par les quatre

concentrations d'extrait d'origanum ou par l'antibiotique synthétique (Amoxicilline) et la 5^{ème} par le DMSO qui est le contrôle négatif (environ 20 µL par puits). Après 24 heures d'incubation à 37 °C dans l'étuve, les diamètres des zones d'inhibition produites par les différents extraits et le standard sont mesurés en millimètres (Belkhiri et al., 2018).

I.3 Analyses statistiques

Les données ont été présentées sous forme de moyennes ± écart-type de trois mesures. L'analyse statistique des résultats a été entreprise par un test de Student à l'aide de GraphPad Prism version 5.00. Les résultats ont été pris en compte statistiquement significatif à $p < 0,001$.

II. Résultats et discussion

II.1. Etude ethnobotanique :

II.1.1. Description de la population

L'analyse des informations de base recueillies auprès de la population enquêtée (sexe, âge, situation familiale, niveau d'étude, résidence, ... etc.), ainsi que des informations sur le nombre d'enquêtés à permettre de caractériser la population étudiée. Notre étude a porté sur 59 individus.

II.1.1.1. Répartition selon le sexe

Dans les sites étudiés, 59 personnes ayant des connaissances ethnobotaniques ont été enquêtées. Parmi elles, on retrouve aussi bien les femmes que les hommes. Les femmes sont au nombre de 34 Soit 57.62% qui sont les plus représentées (Figure 4). Les hommes sont moins représentés avec 42.38%. Nous remarquons que la majorité des personnes qui détiennent les informations sur la plantes médicinales sont des femmes, ce qui est expliqué par le fait que les femmes sont les plus concernées par le traitement phyto-thérapeutique et la préparation des recettes à base végétales, non seulement pour elles-mêmes mais aussi pour la totalité de la famille.

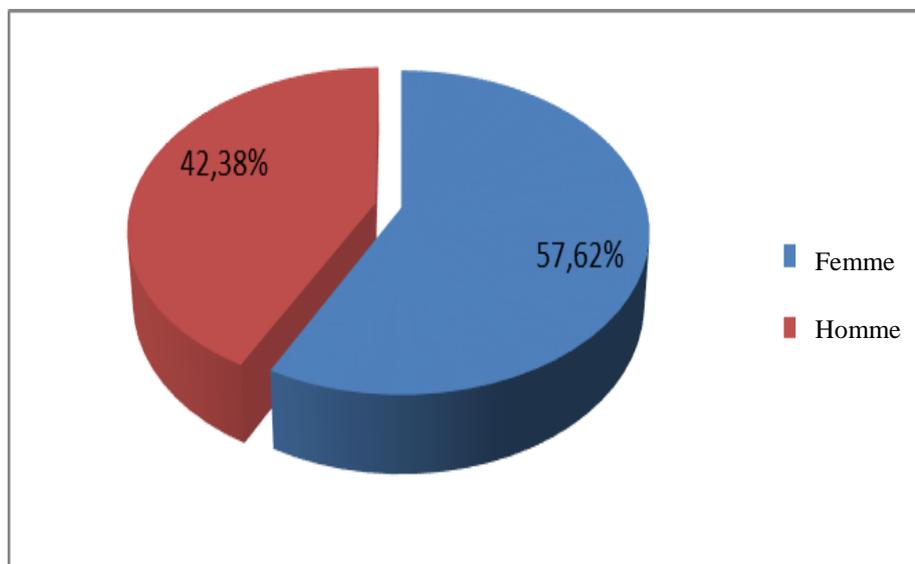


Figure 04 : Répartition selon le sexe

II.1.1.2. Répartition selon la tranche d'âge

Les tranches d'âge enregistrées sont : la tranche inférieure à 20 ans, celle comprise entre 20 et 60 ans et enfin la tranche supérieure à 60 ans. Dans les sites étudiés, les personnes enquêtées ont majoritairement un âge de plus de 60 ans soit 69.32% (Figure 5).

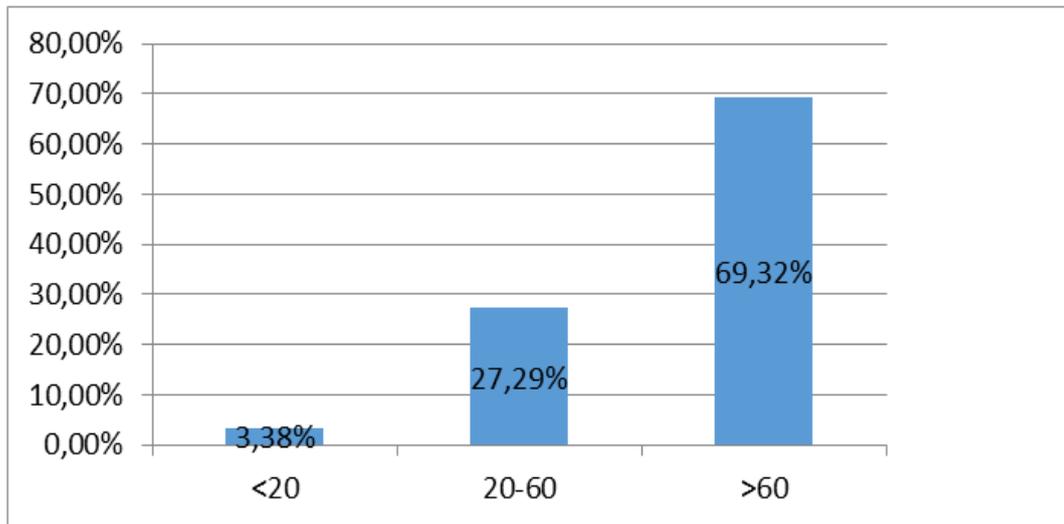


Figure 05 : Répartition selon la tranche d'âge

II.1.1.3. Répartition selon le niveau d'étude

Concernant le niveau d'étude, 43.89 % de la population n'était pas scolarisée, les 42.53% restant se répartissaient entre une scolarisation primaire (20.5%), scolarisation secondaire (22.03%), et seulement 13.5% sont des personnes ayant des niveaux d'études supérieures (Figure 06).

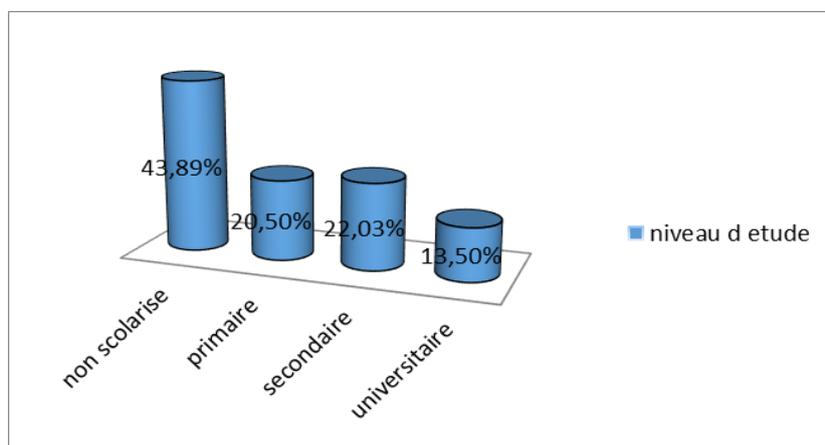


Figure 06 : Répartition de la population selon le niveau d'étude

II.1.1.4. Situation familiale :

Concernant la situation familiale des phytothérapeutes, 61.01 % étaient mariés, 13.55 % étaient célibataires, 16.94 % étaient veufs et 8.47 % étaient divorcés (Figure 7).

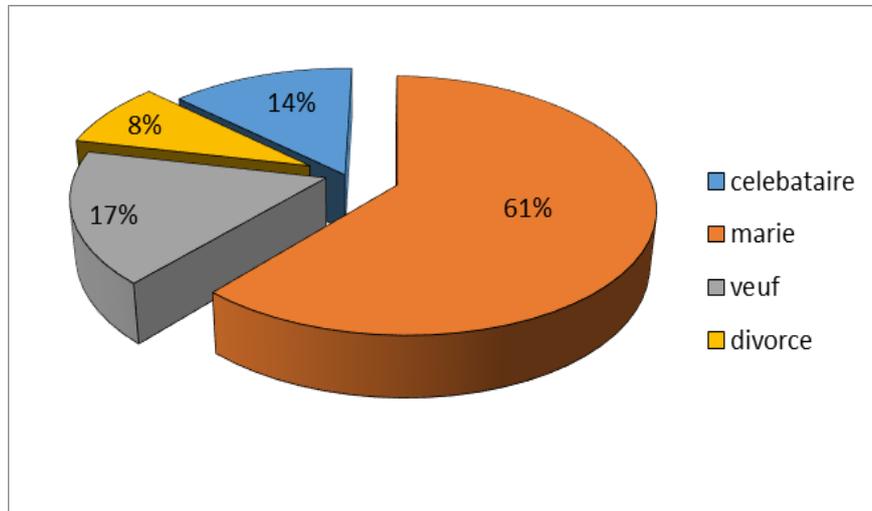


Figure 07 : Répartition de la population selon la situation familiale

II.1.1.5. Origine de la population

La majorité de la population étudiée (71.18%) appartenait au milieu rural (Figure 8).

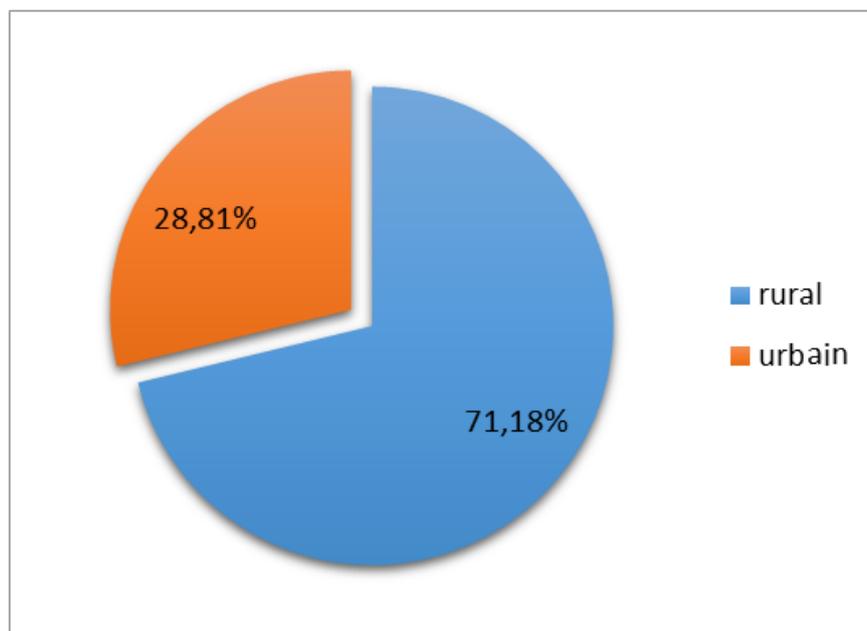


Figure 08: Répartition de la population selon l'origine:

II.1.1.6. Niveau socio-économique (NSE)

Dans notre étude, 57.62% des utilisateurs ont un NSE moyen, 33.89% appartiennent à un niveau bas, et seulement 8.47% disposent d'un NSE élevé (Figure 09).

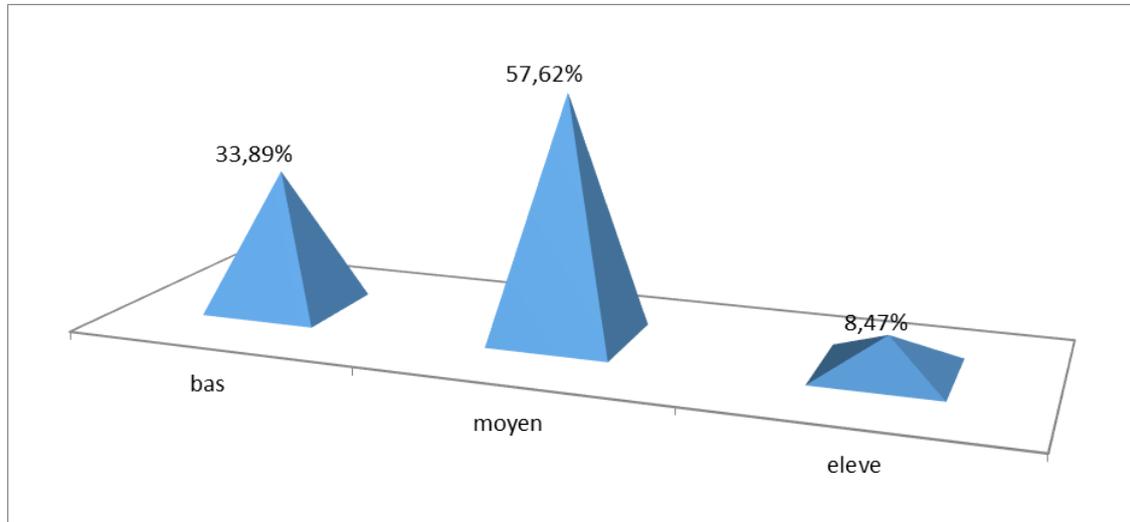


Figure 09 : Répartition de la population selon le niveau socio-économique (NSE)

II.1.1.7. Source de l'information sur la plante utilisée

La majorité des utilisateurs (86.44%) acquièrent l'information à travers les expériences des autres (Figure 10).

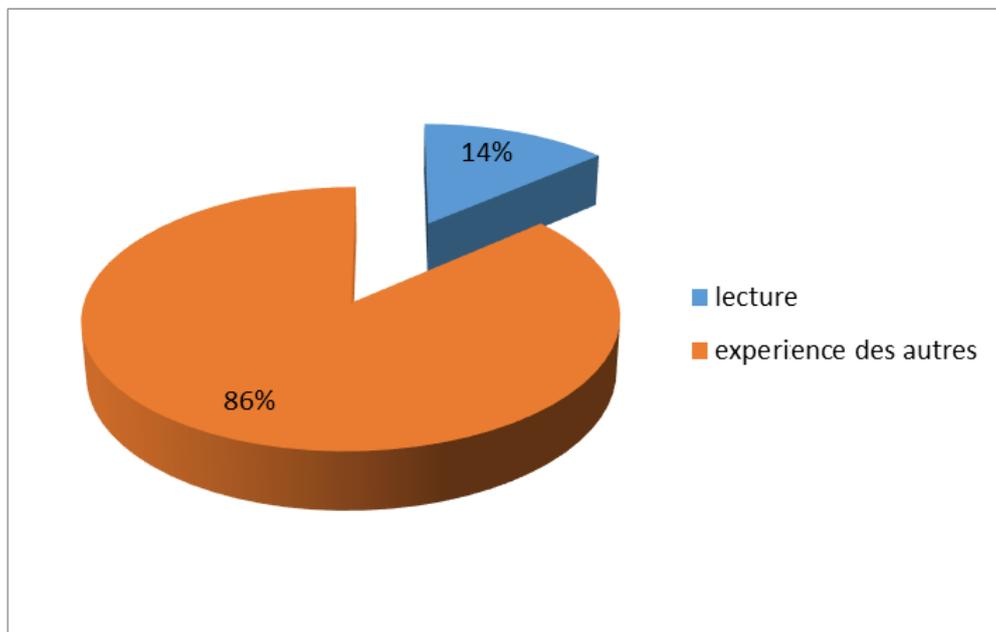


Figure 10: Répartition selon la source de l'information sur la plante utilisée

II.1.1.8. Satisfaction des utilisateurs

La majorité des utilisateurs (89.8%) répartissent entre satisfaits (69.49%) et très satisfaits (20.33%) par le résultat des prescriptions, 6.77% étaient peu satisfaits, et seulement 3.38% étaient déçus (Figure 11).

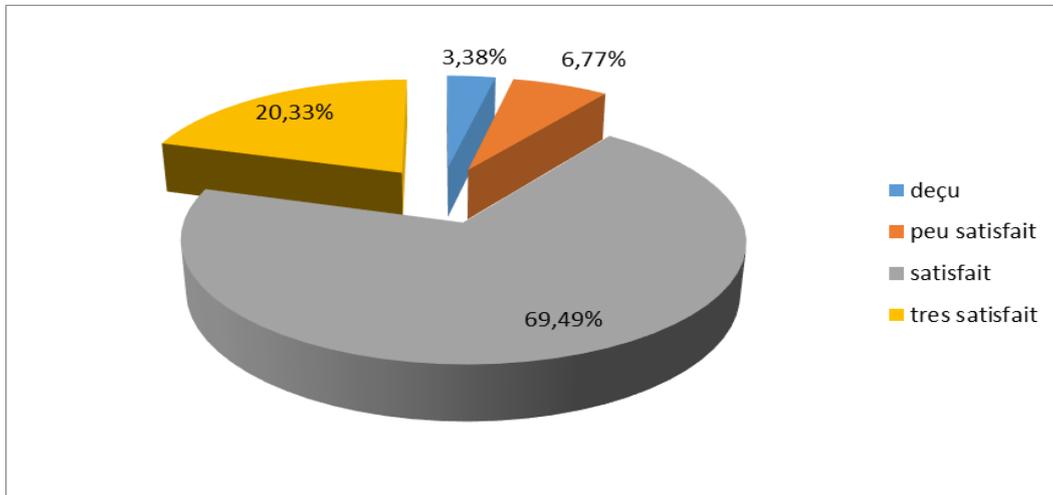


Figure 11 : Répartition selon la Satisfaction des utilisateurs

II.1.1.9. Raison de la phytothérapie

Dans la zone d'étude, 52% des enquêtés ont déclaré avoir recours à la médecine traditionnelle. L'usage des plantes est surtout pour un but thérapeutique, Ceci peut être expliqué par le fait que les communes étudiées recèlent en plante médicinale aromatique et que la population dispose d'un grand savoir-faire ancestral en thérapie, notamment en phytothérapie. En outre, pour certains répondants, le bienfondé de l'utilisation des plantes dans les ménages leur permet d'éviter de parcourir de longs trajets vers les centres de santé, et pour d'autres, les frais de soins dépassent de loin leurs moyens. D'ailleurs, seuls 32%, des enquêtés, renonceraient à l'usage des plantes pour leur efficacité, 13% croient que la phytothérapie est meilleure que la médecine moderne 3% ont d'autres raisons (Figure 12)

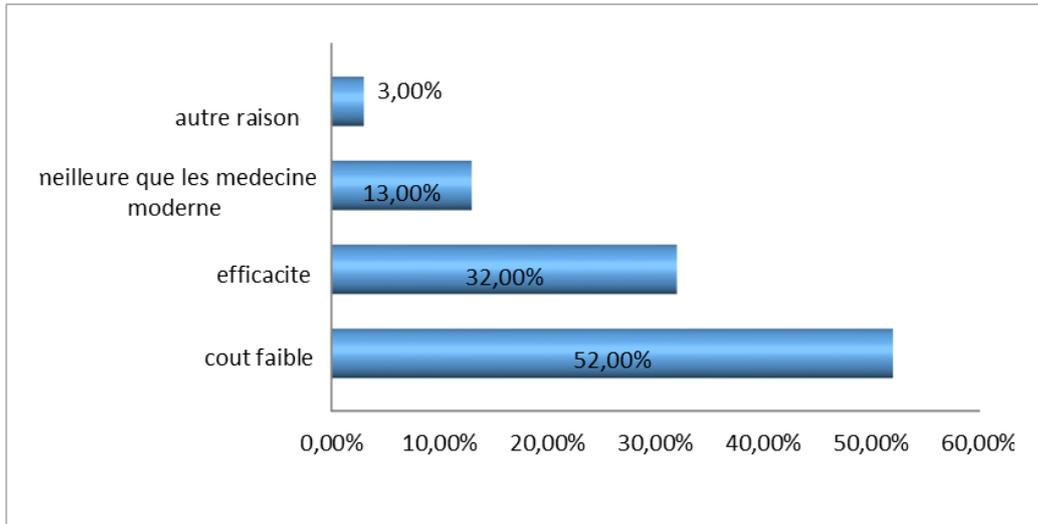


Figure 12 : Répartition selon la raison de phytothérapie

II.1.1.10. Parties de la plantes utilisées

Deux types d'organes sont majoritairement utilisés comme drogues : les rameaux feuillés à 64,7% et la plante entière avec 29,4%. Les résultats indiquent que les rameaux de feuilles sont les parties les plus employées dans la préparation des recettes dans les sites étudiés (Figure 13).

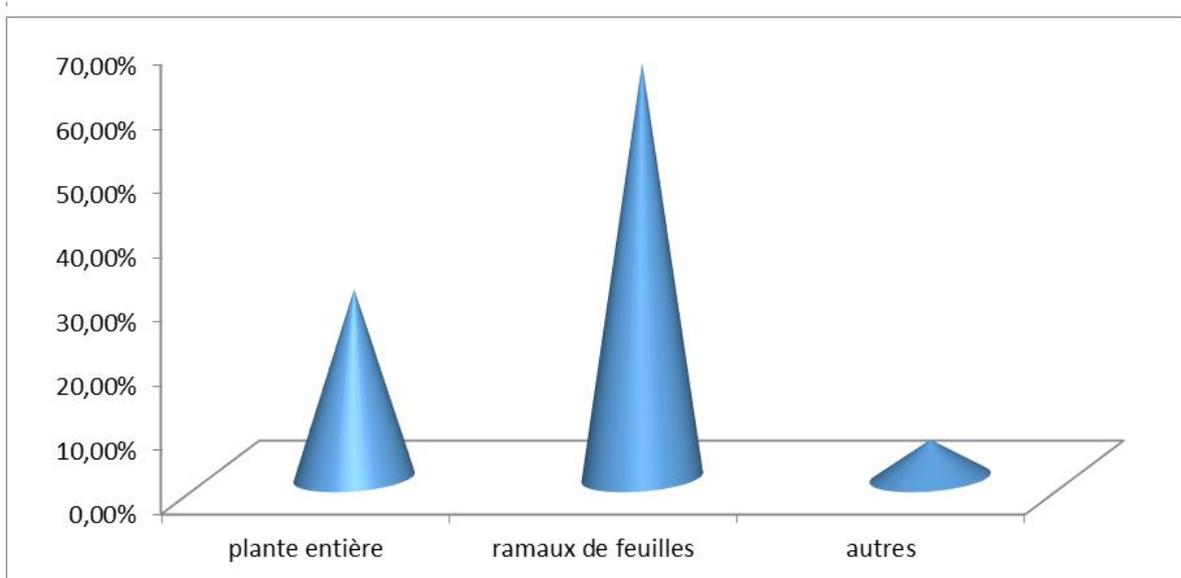


Figure 13 : Répartition selon les parties de plante utilisées

II.1.1.11. Modes de préparation

La plante étudiée est consommée de trois modes de préparation à savoir : l'infusion (46%) la décoction (28,1%) et la macération (25,9%) (Figure 14).

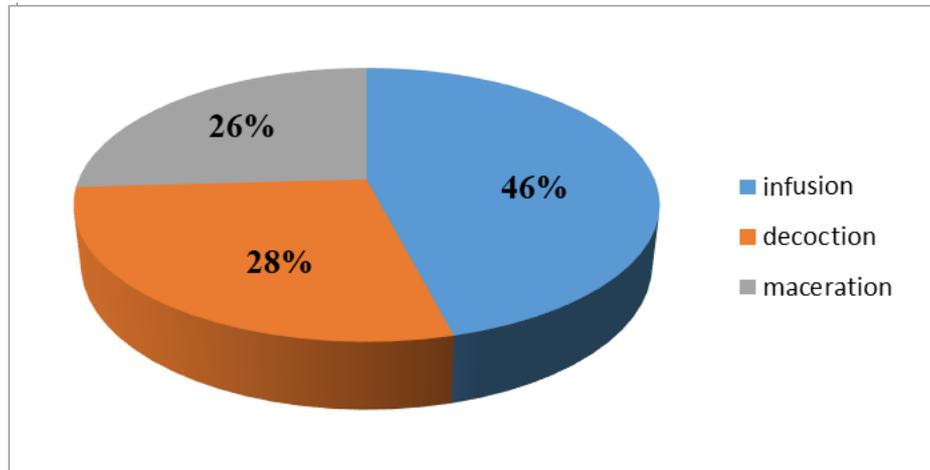


Figure 14: Répartition selon les Techniques de préparation

II.1.1. 12. Pathologies traitées par la plante :

L'enquête ethnobotanique menée dans les sites étudiés a permis de recenser un certain nombre de pathologies traitées par les plantes médicinales (**Annexe 3**) dont les plus fréquentes sont dans un ordre décroissant : maladies respiratoires (37%), maladies digestives (14%), maladies rhumatismales (10%), affections ORL (10%) et maladies dermatologiques (8%) (Figure 15)

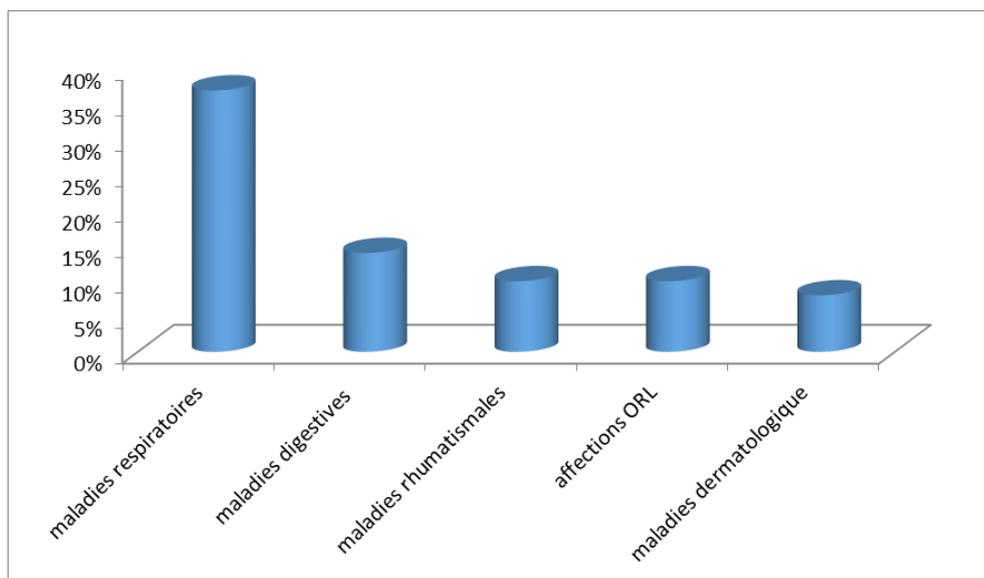


Figure 15: Répartition selon les maladies traitées par la plante étudiée.

La majorité de la population étudiée sont de sexe féminin. Ces résultats confirment les résultats d'autres travaux ethnobotaniques réalisés dans la région de nord-est de l'Algérie comme les travaux de Ait ouakrouch (2015). D'autre part les résultats obtenus par Aribi (2013) dans une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Jijel montrent que les femmes (68%) ont plus de connaissance sur les espèces médicinales que les hommes (32%). Ce qui a affirmé que l'utilisation des plantes médicinales par les femmes s'explique par leurs responsabilités en tant que mères, car elles sont devenues traditionnellement, les dépositaires des secrets des plantes médicinales.

Ce qui concerne la tranche d'âge les résultats confirment que la pratique de la médecine traditionnelle est l'apanage des hommes et des femmes d'âge mûr. En effet, la majorité des tradithérapeutes ont un âge supérieur à 60 ans. Les personnes âgées sont censées fournir des informations plus fiables, du fait qu'elles détiennent une bonne partie du savoir ancestral qui se transmet oralement. La transmission de cette connaissance est en danger actuellement parce qu'elle n'est pas toujours assurée (Orch *et al.*, 2015).

On remarque une fréquence d'utilisation élevée de la partie aérienne suivie de celle des feuilles, ce qui peut être expliquée par l'aisance et la rapidité de la récolte mais aussi par le fait que les feuilles sont le siège de la photosynthèse et parfois du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques de la plante. Ces parties de la plante sont pour la plupart des cas utilisées desséchées du fait qu'elles ne sont pas disponibles toute l'année. Ces organes sont préparés principalement sous la forme d'infusion.

Il ressort de cette étude que 43.89% des personnes enquêtées n'ont pas été scolarisés et ces résultats sont proches des données nationales et montrent que l'usage des plantes médicinales reste l'apanage des personnes pauvres. Les coûts élevés des traitements classiques les effets secondaires et indésirables des médicaments orientent les tradithérapeutes vers les remèdes traditionnels, ils croient que la phytothérapie est meilleure que la médecine moderne. L'abondance de la plante *Origanum vulgare* dans les régions de l'enquête reflète sur sa fréquence d'utilisation élevée.

II.2 Étude phytochimique et activités biologiques

II.2.1. Extraction des composés phénoliques

L'extraction par macération de la partie aérienne de l'*origanum vulgare* dans le méthanol a donné un extrait sec brut avec un rendement de 12.9 % (m/m). Ce rendement est similaire à des résultats trouvés dans quelques études comme celle de Bouhaddouda, (2016) sur la même espèce de la région de Nechmeya (Guelma), qui a rapporté un rendement estimé

par 14.35 % (m/m) utilisant l'extraction par Soxhlet (6 h). Cette différence de rendement entre les deux extraits est due aux techniques d'extraction utilisées, l'origine de la plante, le rendement d'extraction dépend de la saison de récolte, la durée et les conditions de stockage, mais aussi de la méthode d'extraction, la nature du solvant et la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre.

L'utilisation du méthanol s'est révélée plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques que l'eau, ce qui est cohérent avec l'étude menée par Medini et al. (2014), qui ont rapporté que le solvant influençait l'extraction de composés phénoliques à partir de pousses de *L. delicatulum*.

II.2.2. Caractérisation phytochimique

II.2.2.1. Dosage de polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (figure 16), qui est exprimé en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g E).

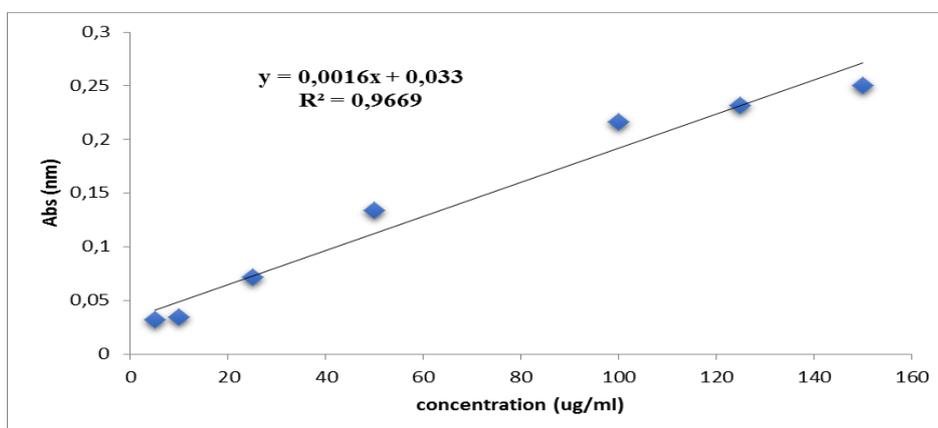


Figure 16 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de l'espèce *Origanum vulgare* est riche en composés phénoliques, avec un teneur de 217.708 ± 0.01 mg EAG/g d'extrait. Ce teneur est nettement supérieur à ceux trouvés par Oukil et al, (2011) sur la même espèce originaire de Bejaia où l'Extrait renferme la teneur de 55.15 mg EAG/g E, mais elle est inférieure que celui enregistré par Bouhhadouda, (2016) sur la même plante récolté de Nechmeya, wilaya de Guelma, dont la teneur en polyphénols est 526.750 mg EAG/g d'extrait. Les différences de teneurs en polyphénols pourraient être dues à des variations génotypiques et environnementales (climat, localisation, température...), au sein des espèces végétales testées, au moment de la récolte et à la procédure d'extraction

Plusieurs études antérieures ont prouvé que plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en polyphénols à savoir la température de séchage, le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction (Goli et al, 2005). En effet, la solubilité des polyphénols est régie par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi que leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour une meilleure récupération des polyphénols, le méthanol est le solvant approprié (Falleh et al., 2008).

II.2.2.2. Dosage de Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la quercétine est utilisée comme standard. La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la quercétine (figure17), et exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par 1g d'extrait (mg EQ/gE).

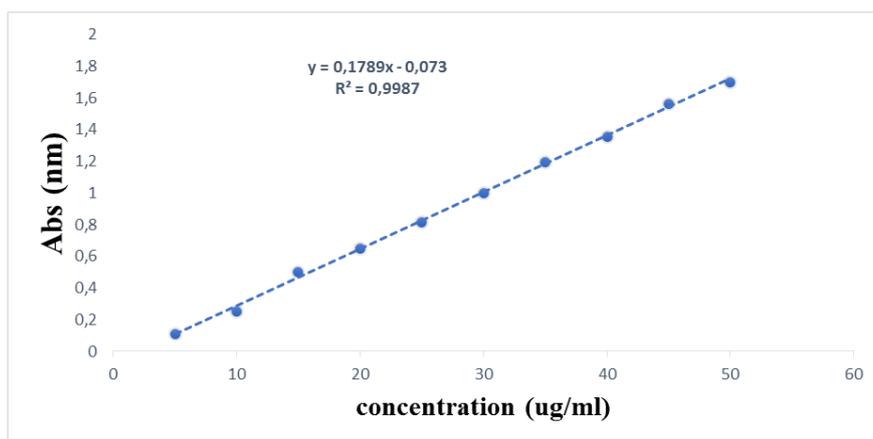


Figure 17: courbe d'étalonnage de la Quercétine

Les résultats de la présente étude montrent que l'extrait méthanolique d'*Origanum vulgare* renferme une teneur en flavonoïdes non négligeable, estimé par 6.61 ± 0.08 mg EQ/g d'extrait. Ce résultat reste inférieur de l'extrait éthanolique d'Oniga, et al (2018) Qui ont estimé un teneur plus élevée en flavonoïdes (38.46 ± 3.54 mg ER/gE), tandis qu'une autre étude menée par Kaurinovic et al. (2011) en utilisant un extrait éthanolique, ont révélé que la même espèce contenait une teneur proche des flavonoïdes totaux (9.37 ± 0.06 mg EQ/g).

La différence de teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes entre les extraits peut s'expliquer par le nombre différent de structures sécrétoires dans divers tissus végétaux (Tucakov, 1997). De plus, il a été constaté que la durée de l'extraction joue un rôle

important car après 48 h toutes les parois cellulaires étaient détruites et tout le matériel végétal était présent en très petites particules. Cela pourrait conduire à l'adsorption de substances déjà extraites sur les particules, de sorte que de plus petites quantités d'extrait passeraient à travers papier filtre, qui se traduirait par une plus petite quantité d'extrait sec après la plus longue période d'extraction (Kaurinovic et al., 2011)

A partir de ces résultats, l'extrait méthanoliques *Origanum vulgare* L à travers leur teneur en polyphénols et flavonoïdes, constitue une source prometteuse en composés bioactifs bénéfiques à la santé humaine (Bouhaddouda, 2016).

II.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

II.2.3.1. Test de piégeage du radical DPPH

La méthode de piégeage du radical libre DPPH est largement utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant des extraits végétaux. Dans cette technique, l'effet antioxydant peut être facilement évalué en suivant la diminution de l'absorption de DPPH à 517 nm (Krimat et al, 2017). Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre, qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La caractéristique de la solution de DPPH est la couleur violette. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu et la mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une réduction des radicaux DPPH (Sirivibulkovit et al., 2018).

La valeur d'IC₅₀, la concentration de l'extrait nécessaire pour piéger 50 % de radicaux libres, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations de l'extrait méthanolique d'*Origanum vulgare* L. et celles de l'acide ascorbique qui sont présentés dans la figure 18.

Les résultats montrent que l'extrait possède une activité antiradicalaire importante vis-à-vis du radical DPPH avec une différence significative avec le standard (Vit C) de manière dose dépendante. Cette valeur d'IC₅₀ ($27.39 \pm 1.4 \mu\text{g/ml}$) est significativement supérieur à celle du Vit C qui a un IC₅₀ de l'ordre de $6,46 \pm 0,52 \mu\text{g/ml}$, cet activité anti-radicalaire est considérable par rapport au standard (Vit C)

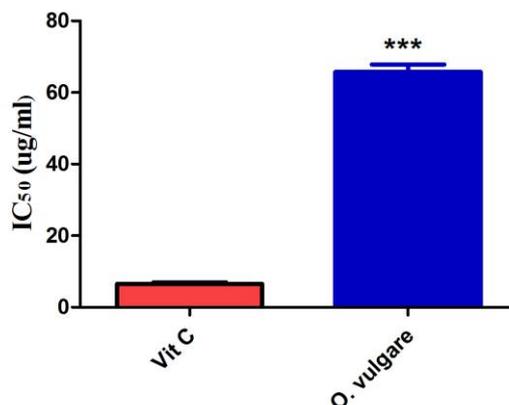


Figure 18 : Activité antiradicalaire d'extrait d'*O. vulgare* et le standard (vit C)

En comparant avec des études précédentes sur la même espèce, ce résultat montre que cette plante possède une activité antioxydante élevée par rapport de celle de Béjaoui et al. (2013a) qui ont prouvé une faible activité antioxydante de l'extrait méthanolique d'*Origanum glandulosum* issu de Tunisie avec une valeur d'IC₅₀ = 600 µg/ml. Comme les travaux d'Oukil et al. (2011) qui ont eu une très faible activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la même plante originaire de Bejaia avec une IC₅₀ = 6730 µg/ml. Tandis que la valeur trouvé dans la présente étude est très proche du résultat obtenu par l'extrait méthanoïque de la même plante de Bouhaddouda, (2016) apporté de Guelma avec une IC₅₀ = 25.59 µg/ml et inférieur par rapport aux huiles essentielles du même plante (IC₅₀ = 661.62 µg/ml). Mais ça demeure supérieur à celle de Krimat, (2017) récolté autour de Beni ouarthilen (Sétif) dont l'IC₅₀ = 12,8 ± 0,2 µg/ml. Cette différenciation est peut être due au solvant utilisé et la teneur en composés bioactifs.

Plusieurs études ont attribué une différence dans l'efficacité antioxydante des plantes, en raison de la différence des quantités et de teneurs totales en phénols et en flavonoïdes, les activités antioxydantes sont plus variables entre les espèces de plantes (inter-espèces) qu'au sein d'une même espèce (intra-espèces) (Ksouri et al., 2008)

Plusieurs études antérieures ont rapporté une relation étroite entre le contenu total phénolique et l'activité antioxydante des extraits du plante. À la lumière des résultats obtenus, il ressort que l'extrait méthanolique d'*Origanum vulgare* dotée d'un pouvoir antioxydant important. cette haute puissance piégeant peut être attribuable à la présence de composés phénoliques à capacité de transfert d'hydrogène dans l'extrait; qui est fortement lié à la présence de groupes hydroxyle. En outre, les puissants effets de piégeage des radicaux de l'extrait peuvent être liés à l'obstacle stérique expansé dans les composés contenus dans les extraits (Jayaprakash et al.,2007 ; Agbor et al., 2007 ; Hodzic et al.,2009).

II.2.4. Activité antibactérienne

Djabou et al, (2013) ont permis de classer l'activité antibactérienne en quatre classes en fonction des diamètres des zones d'inhibitions, à savoir :

- Pas sensible (-) de diamètre inférieur ou égal à 8.0 mm.
- Moyennement sensible (+) pour un diamètre compris entre 8.0 et 14.0 mm.
- Sensible (++) pour un diamètre compris entre 14.0 et 20.0 mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour un diamètre égal ou supérieur à 20.0 mm

Les résultats de nos tests sont présentés dans le tableau I

Tableau I : Diamètre (mm) des zones d'inhibition de l'extrait, de DMSO et d'antibiotique

	Extrait (µg/ml)				Amoxicilline (µg/ml)	DMSO
	50	100	200	300	200	-
<i>E. Coli</i>	07	07	07	07	23	-
	-	-	-	-	+++	
<i>P. aeruginosa</i>	09	14	16	18	12	-
	+	++	++	++	+	
<i>S. aureus</i>	07	07	10	nt	16	-
	-	-	+		++	

D'après les résultats obtenus, Les trois souches bactériennes étudiées sont sensibles à l'amoxicilline (antibiotique de référence) avec des zones d'inhibition variées où la souche *E. coli* est avérée extrêmement sensible à cet antibiotique, avec une zone d'inhibition de 23 mm, alors que la souche *S. aureus* est révélées très sensible par des zones d'inhibitions de 16 mm. Cependant, la souche *P.aeruginosa* s'est avéré sensible par une zone de 12 mm, le solvant de dissolution de l'extrait (DMSO) est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches bactériennes

Les résultats illustrés dans le tableau montrent que l'extrait a exposé un effet significatif contre la souche gram (-) *Pseudomonas aeruginosa* avec DI = 9–18 mm par les quatre concentrations. Cette activité est comparable à l'antibiotique de référence. La bactérie Gram(+), *Staphylococcus aureus* était moins sensible à l'extrait avec DI=10 mm à la concentration 200mg/ml. La bactérie Gram-négative, l'*E. coli* était plus résistante que les autres bactéries. L'extrait d'origanum a un effet significatif et variable avec les différentes

doses testées contre les deux souches *P. aeruginosa* et *S. aureus* de manière dose-dépendante, c'est à dire la concentration élevée de l'extrait reste la plus efficace dans l'inhibition du développement bactérien (annexe 4). Cependant, des résultats négatifs ne signifient pas que les constituants bioactifs sont absents ou que la plante est inactive. Les composés actifs peuvent être présents en quantités insuffisantes dans les extraits bruts ; par conséquent, les niveaux de doses employées ne seraient pas suffisants pour présenter l'activité inhibitrice. L'absence d'activité inhibitrice ne peut donc être prouvée en utilisant de grandes doses. Par ailleurs, même si le principe actif est présent en quantité suffisante, il se peut que d'autres constituants puissent exercer des effets antagonistes sur les effets positifs des agents bioactifs, annulant ainsi l'activité antibactérienne du principe. Il est également possible que les extraits puissent être actifs contre d'autres espèces bactériennes qui n'ont pas été testées

E. coli a montré une résistance contre les quatre doses d'extrait. Ceci est observé dans d'autres études dans lesquelles *E. coli* s'est révélé résistants à tous les extraits. Ceci peut être attribué à la présence d'une capsule dans la structure d'*E. coli*, qui le protège de l'effet des extraits de plantes ou qui empêche l'entrée de l'extrait à l'intérieur de la cellule.

Une étude menée par Martins et al. (2014) a montré une activité antibactérienne modérée de l'extrait éthanolique de l'herbe d'origan à la concentration de 20 mg/mL contre les bactéries Gram négatif : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. sakazakii* et *P. vulgaris*. Où y a-t-il une divergence avec nos résultats car les *E. coli* a montré une résistance contre l'extrait. Cette différence peut être attribuée à la différence de concentration utilisée à l'expérimentation qui affectait la zone d'inhibition, car la concentration approuvée dans son étude était 66 fois supérieure à celle utilisée dans cette étude. Brđanin et al (2015) ont attribuée l'activité de l'extrait à sa teneur en acide rosmarinique en tant que composé phénolique majeur dans l'extrait de méthanol d'origan, pourrait être impliqué dans l'activité exposée.

En général, les bactéries Gram(-) sont plus résistantes que les bactéries Gram(+) grâce à la structure de leur membrane externe. Les bactéries Gram(-) ont une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et l'assise externe composée de lipopolysaccharides et de protéines et constituerait ainsi une barrière imperméable aux substances actives. Pour les Gram(+) la couche peptidoglycane se situe à l'extérieur et leur permet, donc, d'être plus disponibles à entrer en contact avec les composés actifs.

La variabilité d'efficacité de l'extrait méthanolique sur les souches bactériennes dans cette étude peut être liée à sa composition chimique, la polarité des substances bioactives ; les composés les moins polaires n'ayant, par exemple, pas de groupement hydroxyles OH sont plus actifs vis-à-vis des agents microbiens que ceux portant des groupements hydroxyles.

L'effet d'un extrait est probablement due à la synergie entre de nombreux composants qui, lorsqu'ils sont séparés deviennent inactifs individuellement (Fertout, 2016).

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes (Scalbert, 1991 ; Cowan, 1999). Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on cite :

- Inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique due à l'intercalation des polyphénols dans les phospholipides membranaires.
- Inhibition du métabolisme énergétique microbien
- Séquestration des substrats requis pour la croissance microbienne. (Daglia, 2012).
- Inhibition de la synthèse d'acide nucléique (Hilliard *et al.*, 1995).

Conclusion et perspectives

L'Algérie, par sa situation géographique et la grande variation climatique, est un pays très riche en espèces végétales dotées de pouvoirs thérapeutiques divers. Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à la valorisation d'une plante aromatique très utilisées en médecine traditionnelle en Algérie pour ses vertus thérapeutiques en établissant une relation entre ses compositions chimiques et ses activités biologiques.

Ce travail a porté sur l'étude ethnobotanique, phytochimique et les activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) de l'extrait brut de la plante médicinale *Origanum vulgare* de la région de BBA.

Au terme de l'enquête ethnobotanique menée dans les régions de BBA et de Sétif l'ensemble d'informations collecté montre que la phytothérapie traditionnelle continue à être sollicitée par la population locale. Celle-ci a confiance aux usages populaires et/ou n'a pas les moyens de supporter les conséquences et/ou le coût de la médecine moderne.

L'étude montre d'une part l'attachement de la population au patrimoine traditionnel, surtout dans les douars enclavés où la population locale a su développer au fil du temps un savoir-faire important et des techniques traditionnelles impressionnantes quant à l'usage des plantes aromatiques et médicinales. D'autre part, elle révèle la richesse de la région en plantes médicinales majoritairement spontanées, en ce sens qu'elle constitue un réservoir très riche en biodiversité végétale, qui est par ailleurs consolidée par les potentialités importantes en paysage naturel typique et richesses a été réalisée patrimoniales elKsour et culturelles (zawia sidi hssen cherif); Tout cela constitue autant d'atouts à saisir pour le développement durable de la région (tourisme vert, filière Pam, Produits terroirs...).

En laboratoire l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'espèce végétale algérienne *Origanum vulgare* L. Cette plante est collectée à la région d'El Achir au nord-ouest de la willaya de Bordj-bou-arrerdj au mois d'avril. En premier lieu, L'extraction par macération de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir un rendement de 12.9%. La teneur en polyphénols totaux pour l'extrait a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de l'*Origanum vulgare* L est très riche par ces molécules avec un teneur de 217.708 ± 0.01 mg EAG/g d'extrait. Cependant, le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), qui présente un moyen de 6.612 ± 0.08 mg EQ/mg d'extrait. Ce qui confirme sa richesse en flavonoïdes et en polyphénols.

L'activité antioxydante des extraits de *Origanum vulgare* L a été évaluée par la méthode de piégeage de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante très importante, grâce à leurs constituants (composés polyphénoliques) avec un $IC_{50} = 27.39 \pm 1.4 \mu\text{g/ml}$.

L'activité antimicrobienne a été déterminée selon la méthode de diffusion sur gélose par puits contre trois souches bactériennes, l'extrait brut a montré une forte activité vis-à-vis la souche bactérienne *pseudomonas aeruginosa*, une activité faible contre *staphylococcus aureus*, tandis que la bactérie *E.coli* s'est avérée résistante. Cette étude prouve l'activité antibactérienne de cette plante ce qui explique leur utilisation traditionnelle contre les maladies liées aux microbes.

D'après ces résultats, *Origanum vulgare* L. représente une source naturelle et prometteuse de molécules possédant des activités biologiques très importantes. Cependant, des recherches supplémentaires approfondies sont nécessaires pour :

- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante *in vivo*.
- ✓ Etude de l'efficacité de cet extrait dans le domaine alimentaire afin d'établir son utilité comme agents antimicrobiens ou antioxydants naturels dans la sécurité alimentaire.
- ✓ Fractionnement et isolement des différents constituants de l'extrait hydro-méthanolique, afin de connaître la ou les molécules à l'origine des effets antioxydants, antibactériens et l'éventuelle synergie entre elles par l'HPLC/SM afin d'établir une relation structure-activité.

Références Bibliographiques

- **Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. and Tattini, M. (2012).** Flavonoids as antioxidants in plants : location and functional significance. *Plant Science*, **196**, 67-76.
- **Agbor** Gabriel **Frida Longo Estelle A Makong, (2014).** Evaluation of the antidiarrheal and antioxidant properties of *Justicia hypocrateriformis*. *Pharmaceutical Biology* **52**,(9).
- **Aouachriaa, Sana., Boumerfegb Sabah., Abderrahim Benslamaa., Benbachac Faycel., Thoraya Guemmeza., Seddik Khennoufd., Lekhmici Arrara., Abderrahmane Baghiani, (2017).** Acute, sub-acute toxicity and antioxidant activities (*in vitro* and *in vivo*) of *Reichardia picroide* crude extract, *Journal of Ethnopharmacology* ,**208**,105-116.
- **Aribi, I. (2013).** Etude ethnobotanique de plantes médicinales de la région du Jijel :étude anatomique, phytochimique, et recherche d'activités biologiques de deux espèces. *Magister. Alger : Université des sciences et de la technologie Houari*
- **Baba Aissa, F. (1991).** Les plantes médicinales d'Algérie : identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie. *Ed. Bouchène et Ad.*
- **Barrau,J., Gimlette,JD. Malay Poisons and Charms Cures. London, Oxford Univer sity Press, 1971,** xiv +301 p.
- **Belkhiri, F, 2018.** Activité Antimicrobienne et Antioxydante de deux Plantes Médicinales : *Salvia verbenaca* et *Lepidium sativum.*,*Thèse de doctorah en science*,170p.
- **Boizot N., Charpentier J.P, 2006-** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fustier. *Le cahier des techniques de l'Inra.* Pp79-82.
- **Bouaziz, H. (2014).** Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales de laKabylie du Djurdjura. Thèse ingénieur. El-Harrach : *Ecole nationale supérieure d'agronomie El-Harrach*, 118 p.
- **Bouhaddouda, N, 2016,** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, *Thèse de doctorah en biochimie*,205p
- **Bouroubou, HP. (2013).** Initiation à l'ethnobotanique : 91Collectede données. *Phametra/Cenarest Libreville, Gabon, Ecole d'été sur les savoirs ethnobiologiques*, 57 P.
- **Brandw-Williams., Cuvelier. M.E., Berset C, (1995).** Use of à free radical méthode to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology.* **Volume 28**, Issue 1, , Pages 25-3
- **Bravo, L. (1998).** Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), pp 317-333
- **British pharmacopoeia, (2013).** Herbal drugs, herbal drug preparations and herbal medicinal products. **Volume 4.**
- **Bruneton J, (1993).**Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales. *2èmeEd Lavoisier paris.*
- **CHIEJ R, (1984).** Macdonald encyclopedia of medicinal plants. Ed. Macdonald, London, 212-217.
- **Daglia M., 2012.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.* **23** (2), 174-181.
- **DGF., (2016).** *Direction Générale Des Forêts de Bordj Bou Arreridj.*
- **Djabou Nassim, Dib Mohamed El Amine, Allali Hocine, Andreas,Benderb., Mohammad A.Kamal,SaidGhalem., & BoufeldjaTabtia.,2013.** Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of the phenolic composition of Algerian *Arbutus unedo* L. roots. *Pharmacognosy Journal.* **Volume 5**, Issue 6, Pages 275-280
- **Djelloul Daouadji S., (2010).** Detection de Biofilm a Staphylocoques sur Catheters Veineux. *Thèse de Magister en Biologie Moléculaire et Cellulaire.* Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 77

- **Djeridane, A., Yousfi, M., NADJEMI B., Boutassouna, A., Stocker, C., & Vidal, N., (2005).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **Vol. (97):** 654–660.
- **Dubois, J., Mitterand, H., & Dautat, A.(2006).** *Dictionnaire étymologique et historique du français*, Éditions Larousse.
- **Dutertre JMJ, (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste [Thèse]. Bordeaux, Université Bordeaux 2 Victor Segalen -UFR des Sciences Médicales.
- **Dr Claire Laurent-Berthoud.** Tisanes : Guide pratique pour toute la famille Prévenir, soulager et se soigner au naturel. *édition Jouvence* 2013.
- **Fallah, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., TRABELSI N., Boulaaba, & M., Abdelly, C., (2008)-** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C. R. Biologies.* **Vol. (331).** 372-379
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
- **Favier, A. (2003).** Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique.* p 108-115.
- **Fertout Nadjia –Mouri., Ali Latrache., Zoheir Mehdadi., & Zohra Bengherraz , (2016).** Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*, **Vol. 85**, 2016, p. 253 – 262.
- **Gibbons S., (2008).** Phytochemicals for bacterial resistance - Strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Med.* 74: 594-602.
- **Goli. Amir Hossein., Mohsen Barzegar., & Mohammad Ali Sahari, (2005).** Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry* **Volume 92**, Issue 3, September 2005, Pages 521-525.
- **Handa, Khanudja., Longo, G., & Rakhesh, D.D, (2008).** Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology*, 260 p.
- **Harrar,(2012),** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Pour obtenir le diplôme de Magister Option : Biochimie et physiologie expérimentale.
- **Hilliard J.J., Krause H.M., Bernstein J.I., Fernandez J.A., Nguyen V., Ohemeng K.A. & Barrett J.F., 1995.** A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. *Adv. Exp. Med. Biol.* 390: 59-69.
- **Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlaisavljevic, S. and Trivic, S. (2011)** Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts. *Molecules*, 16, 7401-7414.
- **Kafor, R. C. (1988).** Popular Music Education in Nigera, *International Journal of Music Education*, **11**, 21–30.
- **Krimat. S· H. Metidji · C. Tigrine · D. Dahmane · A. Nouasri · T. Dob 2017,** Analyse chimique, activités antioxydante, anti-inflammatoire et cytotoxique d'extrait hydrométhanolique d'*Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, **Volume 17**, Numéro **2**, p : 58-65.
- **Ksouri R, Megdiche A and Abdelly C:** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *CR Biol* 2008; 331: 865-873.
- **Letswaart, J.H.A. (1980).** Taxonomic Revision of the genus *Origanum* (Labiatae), Leiden Botanical Series, Vol 4, Leiden University Press, The Hague, Netherlands

- **Lewis K., (2001).** In search of natural substrates and inhibitors of MDR pumps. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 3: 247-254.
- **Leybros et Fremeaux, (1990)** ,Extraction solide-liquide. Aspects théoriques Opérations unitaires. *Génie de la réaction chimique.*
- **Macheix J.J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechnologiques et universitaires romandes, *Collection Biologie, Lausanne.* pp: 4-5, 192.
- **Mahmoudi, S., Khali, M., et Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut : *Cynara scolymus L, Nature et Technologie, 9*, pp 35- 40.
- **Meddour A., Yahia, M., Benkiki N., & AYACHI A., (2013).** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa L. Lebanese Science Journal. Vol. (14):* 49-60.
- **MedinFateni., Fellah Hanen., Ksouri Riadh., & AbdelyChedly, (2014).** Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum.* Journal of Taibah University for Science. **Volume 8**, Issue 3, Pages 216-224
- **Mouas, Yamina., Bouamra, Aicha., Boussad, Fariza., Benrebiha, Fatma Zohra., & Chaouia, Cherifa 2021,** Effet Aphicide de l'extrait Méthanolique d'origanum Floribondum Munby (lamiaceae) Vis Avis Du Puceron Des Céréales Sitobion Avenae. Fabricius, 1794 (aphididae). *AGROBIOLOGIA*, Volume 11, Numéro 2, Pages 2706-2714.
- **Middleton E., Kandaswanic C. etTheoharides T .C.,(2000).**The effect of plant flavonoïdes on mammalian cells implications for inflammation, Heart disease, and cancerpharmacological review. **52:673-751**
- **Nogaret A, Ehrhart S. Pratique des plantes.** In : Nogaret A, Ehrhart S. La phytothérapie Se soigner par les plantes. France : Groupe Eyrolles ; 2003.P.19-36.
- **Oniga, I., Puşcaş, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Olah, N. K., Sevastre, B., Marica, R., & Hanganu, D. (2018).** Origanum vulgare ssp. vulgare: *Chemical composition andbiological studies. Molecules, 23(8),* 2077.
- **Orch. Hicham, Douira. Allal et Zidane. Lahcen, 2015.** Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète, et des maladies cardiaques dans la région d'Izarène (Nord du Maroc). *Journal of Applied Biosciences 86:7940– 7956.*
- **Oukil, N, Madani., A. Basli M. Chibane, K. Madani & N. Oukil, (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: Origanum glandulosum Desf. *Phytothérapie volume 10* ,page 2-9.
- **Quezel, P. and Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Tome I et II. Edition CNRS, Paris.*
- **Sklyar G.M, .Rezounenko A.V, 2005.,** Stability analysis of neutral type systems in Hilbert space. Journal of Differential Equations. **Volume 214**, Issue 2, , Pages 391-428
- **Ruberto G, Barata MT, Sari M, Kaabexhe M, 2002.** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils From Algerian Origanum glandulosum Desf. *Flavour and Fragrance Journal, 17:* 251–254.
- **SARI, M. (1999):** Etude ethnobotanique et pharmacopée traditionnelle dans le Tell Sétifien (Algérie). *Mémoire de Magister, Université Ferhat ABBAS de Sétif.* 90 pages
- **Sebai M, Boudali M, (2012).** La phytothérapie entre la confiance et méfiance [Mémoire]. *Chlef : Institut de formation paramédical.*
- **Siegenthaler W. & Luthy R., 1978.** Current chemotherapy. In: proceedings of 10 th International congress of chemotherapy. *American Society for Microbiology, Washington DC, USA.*

- **Singh S.B., 2012.** Natural products in the 21st Century. In: Dougherty T.J. & Pucci M.J. Antibiotic Discovery and Development. Ed. Springer, New York. pp: 821– 841.
- **Singleton, V. L., Orthofer R., & Lamuela-Raventos R. M., (1999)-** Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* p152- 177.
- **Sirivibulkovit. Kitima, Souksanh Nouanthavong., & Yupaporn Sameenoi, (2018).** Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *National center biotechnologyinformation.***34(7):**795-800.
- **Tabuti. J.R.S., Dhillon,S., & Alye. K, (2003).** Traditional medicine in Bulamogi county, Uganda : its practitioners, users and viability. *Journal of Ethnopharmacology_***Volume 85**, Issue 1, March 2003, Pages 119-129.
- **Tawfeeq J.D., & Akrayi H.F. (2012)** Antibacterial activity of *Lepidium sativum* and *Allium porrum* extracts and juices against some gram positive and gram négative bacteria. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, **20(1)**, 10-16.
- **Treki A.S., Merghem R., & Dehimat L., (2009).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie.* **Vol. (29)**, 25-29
- **Tucakov, J, (1997).** Healing With Herbs (Phytotherapy); Rad: Beograd, Serbia,; pp. 34-38(in Serbian).
- **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. & Ouar Korich M.N., (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb.* **91**, 5-12.

ANNEXES

ANNEXE1 : FICHE D'ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

1. Profil de l'informateur

Age : A1 < 20 ans A2 : (20-60) A3 > 60

Sexe : Masculin Féminin

Niveau : Non scolarisé Primaire Secondaire universitaire

Situation familiale : Marié Célibataire Veuf Divorcé

Revenu mensuel : < 20000Da 20000-100000Da >100000Da

Milieu de vie : Rural : Urbain

Espèces médicinales Nom vernaculaire	Pathologie	Partie utilisée	Mode de Préparation	Mode d'administration	Durée d'utilisation	Période de collecte
		1- Racine <input type="checkbox"/> 2- Tige <input type="checkbox"/> 3- Feuille <input type="checkbox"/> 4- Ecorce <input type="checkbox"/> 5- Rhizome <input type="checkbox"/> 6- Fleur <input type="checkbox"/> 7- Style <input type="checkbox"/> 8- Fruit <input type="checkbox"/> 9- Graine <input type="checkbox"/> 10- Plante entière <input type="checkbox"/>				

Origine de l'information : Lecture Expérience des autres

Taux de satisfaction : Déçu Peu satisfait Satisfait Très satisfait

Sexe des clients : >50 % femmes >50 % hommes

Raison de la phytothérapie : Faible cout Efficacité Meilleure que la médecine moderne Autres

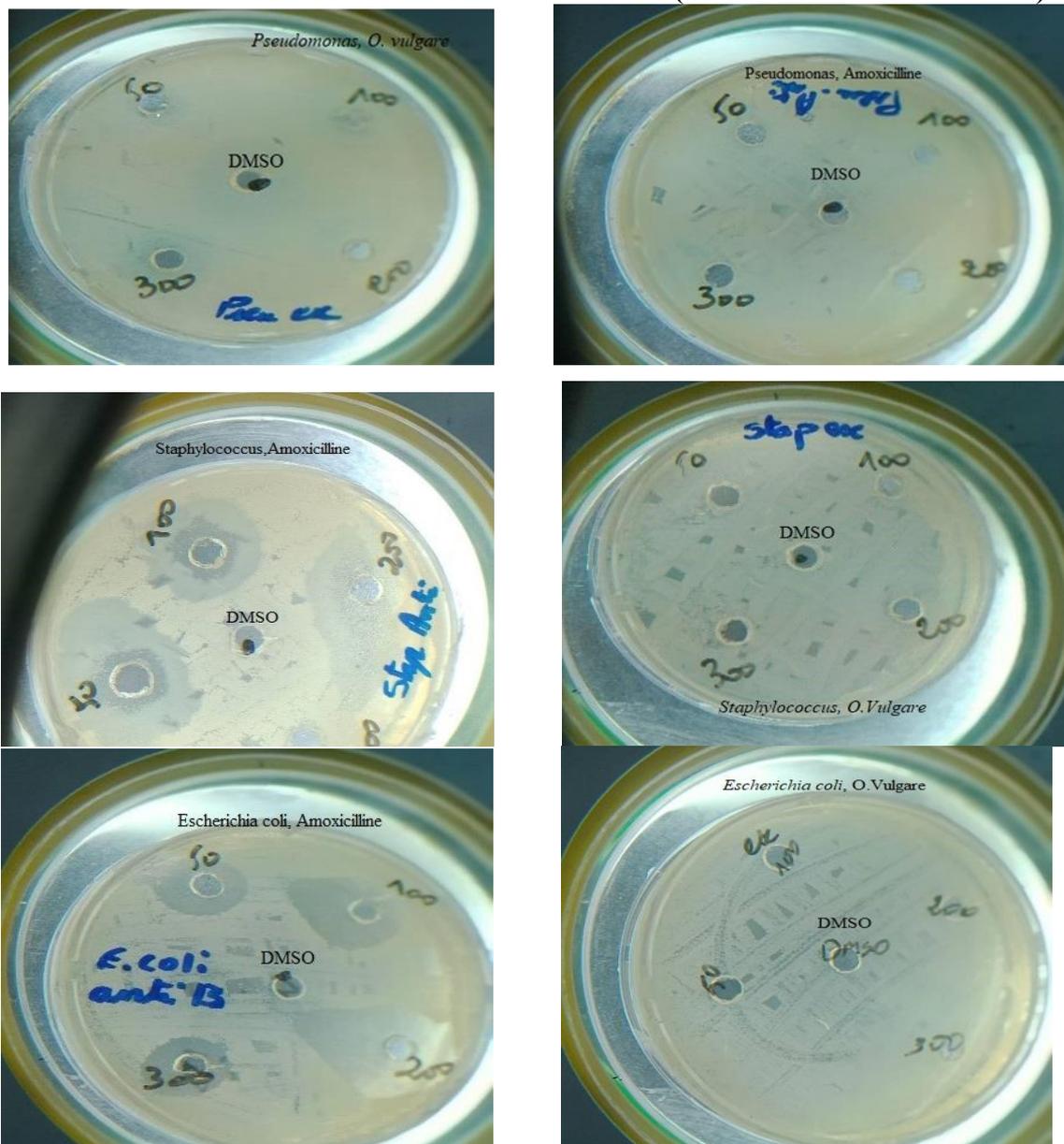
ANNEXE 02 : localisation géographique des zones d'études.



ANNEXE 03 : Tableau récapitulatif des différentes maladies traitées par les plantes la plante médicinale *Origanum vulgare* L.

Nom vernaculaire de l'espèce	Pathologies	Parties utilisées	Mode de préparation	Mode d'administration	Durée d'utilisation	Période de collecte
En français: Origan	-maladies respiratoires	1. Racine..	Tisanes	Orale	Jusqu' à la guérison	-Avant la floraison - période de la floraison (mois de juillet)
En arabe: Zaàter	-maladies digestives	2. Tige	Décoction	Locale (massage)		
	-maladies rhumatismales	3. Feuilles	Infusion			
	- Maladies dermatologiques	4. Fleur	Macération			
	-Autres : (maux d'oreille, gingivite...)	5. grain	Poudre			
		6. rhizome				
		7. plante entière				

ANNEXE 04 : résultats de l'activité antibactérienne (de l'extrait et l'amoxicilline)



ANNEXE 05 : Réactifs chimiques et solvants

Dans cette étude, le Méthanol est utilisé comme solvant d'extraction et de préparation, et les réactifs chimiques exploités sont : $AlCl_3$, Folin ciocolteu, Na_2CO_3 , 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH), acide gallique, quercetine, acide ascorbique, DMSO, l'eau peptone, l'eau physiologique et l'eau distillée.

