



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par :

BOUSSEBAINE Ikram
BOUSSEBEINE Meriem
MECHETOUNE Mohamed Naserddine

Thème :

Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques du romarin (*Rosmarinus Tournfourtii*)

Soutenu publiquement le : 8 juillet 2023

Jury :

Président : SOUALMI. N

Encadrant : ACHIR. M

Examineur : MOUKHFI. F.Z

Invités : TAIBI .K

TADJ. A

SOUANA. K

Grade

Docteur

Docteur

Docteur

Année universitaire 2022-2023

Dédicaces

À mes parents, je veux exprimer mon amour éternel et mon respect pour tout ce que vous avez fait pour moi. Vos sacrifices et votre dévouement sont des exemples de valeurs que je porte en moi. Merci de m'avoir donné la chance de grandir dans un foyer chaleureux et aimant, où j'ai appris à être une personne honnête, généreuse et forte.

À mon frère Aoued, je veux dire que tu es le meilleur frère qu'on puisse avoir. Tu es mon complice, mon ami. Tu es celui qui m'a appris à rire aux éclats. Tu es un modèle de détermination et de persévérance.

À mes amis, je veux dire que vous êtes des compagnons précieux, qui remplissent ma vie de fous rires, de moments d'intimité et de partage. Vous êtes ceux qui m'ont aidé à grandir, à m'ouvrir à de nouveaux horizons et à vivre des aventures fabuleuses.

Je tenais donc à vous dire merci

MECHETOUN Mohamed

Dédicaces

Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir au moment que j'ai
L'attendu

Je dédie mon modeste travail:

A cette femme exceptionnelle BOUKADER Souhila qui m'inspire depuis toujours et à qui je
dois tout, À ma meilleure amie, toujours disponible et attentive qui m'a donné les plus
précieux conseils et pardonne mes erreurs. À cette mère courageuse et forte qui m'a protégé
de toutes ses. Forces et qui m'a aimé de tout son cœur « Merci pour tous vos prières Maman
tu seras toujours » Notre rayon d'espoir., repose en paix et sois certaine de toujours rester
vivante en moi.

Amon très cher père Mohamed BOUSSEBAINE Tu as toujours été pour moi un exemple du
père. Respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.
Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier
pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon
parcours.

A mes chères sœurs chères amis pour leurs encouragements permanents, et leur soutien
moral,

À mes chères sœurs : Djihane, Asma, Fadia, Amina, Khadija, Douaa et Chaima

À mes chers frères Omar Adel, Mokhtar

A ma belle mère (la femme de mon père) merci pour ton soutien et pour tout : Karima

CHIKH

Sans oublier mon confrère MECHTOUNE Mohamed

Enfin je remercier À toute ma famille qui a toujours participé à me donner du courage et de la
volonté. À tous les enseignants qui ont contribué à ma formation À tous mes amies et
collègues et tous les assistants qui me connaissent
BOUSSEBAINE Ikram

Dédicaces

Dédicace Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir au moment
que j'ai l'attendu

À mes très chers parents qui m'ont soutenu tout au long de ce parcours académique. Leur confiance, leurs encouragements et leur soutien indéfectible ont été essentiels pour moi.

À ma meilleure sœur
À mes chers frères Nabil, Abd elilah

Mes chères amies et à toute personne que j'ai rencontré durant ma vie et qui m'a appris quelque chose de bien

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre plus sincère gratitude et nos remerciements les plus chaleureux à Allah le bénéfique soit loué et qu'il nous guide sur la bonne voie pour nous avoir permis de mener à bien ce travail de mémoire.

Nous souhaitons également adresser nos plus profonds remerciements à notre encadrant Dr. Achir Mohamed, ainsi qu'aux membres de jury Dr. Soualmi. N et Dr. Moukhlifi F.Z pour l'honneur qu'ils ont fait de juger notre travail.

Nous exprimons également notre gratitude envers les ingénieurs de laboratoire Mme Samar et Mme Hachi Fatima, ainsi que toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ce travail, notamment Pr. Taibi Khaled, Dr. Tadj Aek, Dr. Boussaid Mohamed et Dr. Souana Kada.

Nous vous sommes profondément reconnaissants pour votre disponibilité, votre gentillesse et votre aide précieuse tout au long de notre période d'étude.

Table de matières

Dédicace

Remerciement

Liste des tableaux et figures

Liste des abréviations

Résumé

Introduction 1

Synthèse Bibliographique 2-7

1. Généralités 2

2. La Classification Scientifique 2

3. L'usage traditionnelle de romarin	3
4. Définitions	4
5. Répartition Géographique	4
6. Les noms vernaculaires	4
7. Propriétés chimique	6
8. Activités Biologiques Du Romarin	7
Partie Expérimentale	8-16
I. Matériel et Méthode	8
1. Extraction par macération	8
1.1.1. Principe	8
1.1.2. Mode opératoire	9
2. Dosage spectrophotométrique	10
2.1. Dosage des polyphénols totaux	10
2.1.1. Principe	10
2.1.2. Mode opératoire	11
2.2. Dosage des flavonoïdes	11
2.2.1. Principe	11
2.2.2. Mode opératoire	12
2.3. Dosage des tanins totaux	12
2.3.1. Principe	12
2.3.2. Mode opératoire	12
3. Evaluation des activités biologiques	13
3.1. Activité antioxydante	13
3.1.1. Piégeage du radical libre par DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazil)	13

3.1.2. Principe	13
3.1.3. Mode opératoire	13
3.2. Activité antibactérienne	14
3.2.1. Matériel biologique	14
3.2.2. Préparation de la suspension bactérienne	14
3.2.3. Préparation du milieu de culture	15
3.2.4. Préparation des dilutions	15
3.2.5. Préparation des disques	15
3.3. Activité Hémolitique	15
3.3.1. Principe	15
3.3.2. Mode opératoire	16
Résultats	17-23
1.1. Rendement des extraits	17
1. Extraction par macération	17
2. Dosage spectrophotométrique	18
2.1. Dosage des polyphénols totaux	18
2.2. Dosage des flavonoïdes totaux	18
2.3. Dosage des tanins totaux des extraits	19
3. Evaluation des activités biologiques	20
3.1. Activité antioxydante	20
3.2. Activité antibactérienne	21
3.3. Activité Hémolitique	22
Discussion	24-26
Conclusion	27

Leste des Tableaux

Tableau 1. Classification scientifique des espèces de romarin.....3

Tableau 2. Rendement des extraits.....17

Tableau 3. Les valeurs d'IC50% pour différents extraits du romarin.....21

Tableau 4. Diamètre d'inhibition (mm) des différentes souches testées avec deux extraits de la région de Karman.....22

Leste des Figures

Figure 1. Région méditerranéenne Rosmarinus officinales-L: R.officinales-L (vert) (Wikipédia-2018).....5

Figure 2. Carte de distribution du Rosmarinus eriocalyx: R. eriocalyx (vert) (ResearchGate 2014).....6

Figure 3. Sites d'échantillonnage (originale 2023).....8

Figure 4. Evaporation à 40°C (Rota vapeur)	9
Figure 5. Agitation de l'échantillon	10
Figure 6. Extrait final	10
Figure 7. Réaction entre Chlorure d'aluminium et les Flavonoïdes	11
Figure 8. Teneur en polyphénols totaux des extraits étudiés (en µg.EqAG/mg)	18
Figure 9. Teneur en flavonoïdes totaux des extraits étudiés (en µg.EqAG/mg).....	19
Figure 10. Teneur en tanins totaux des extraits étudiés (en µg.EqAG/mg)	20
Figure 11. Résultats des tests d'hémolyse	23

Liste des abréviations

AICl₃ : Trichlorure d'aluminium

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EA: Extraits aqueux

EA RHT : Extrait aqueux romarin harmla tige

EA RHF : Extrait aqueux romarin harmla feuille

EA RKF : Extrait aqueux romarin karman feuille

EA RKT : Extrait aqueux romarin karman tige

EE : Extraits éthanoliques

EE RHF : Extrait éthanolique romarin harmla Feuille

EE RHT : Extrait éthanolique romarin harmla tige
EE RKF : Extrait éthanolique romarin karman feuille
EE RKT : Extrait éthanolique romarin karman tige
HCl : Acide Chlorhydrique
HE : Huile essentielle
IC50% : Concentration inhibitrice de 50%
K : Potassium
M : poids de l'extrait sec (g)
M0 : Poids de l'échantillon en poudre (g)
Na₂CO₃ : Solution de carbonate de sodium
OMS : Organisation mondiale de la santé
PA : Principe actif
PBS : Phosphate buffered saline
RDT : Rendements d'extraction

Résumé

Le romarin est depuis longtemps reconnu pour ses propriétés médicinales et ses multiples applications thérapeutiques. L'étude de ses propriétés biologiques s'avère nécessaire pour valoriser son potentiel thérapeutique. C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui consiste en une caractérisation phytochimique suivie d'une évaluation de ses propriétés biologiques.

Le criblage phytochimique montre que les extraits aqueux des échantillons prélevés de la région dite Harmla « sougueur », présentent des teneurs élevées en polyphénols par rapport aux extraits éthanoliques, et affichent respectivement, des teneurs de 109.30 µg. EqAG/mg et 64.49 µg. EqAG/mg. L'extrait éthanolique de la partie des feuilles de Karman présente une teneur de 146.19 µg. EqAG/mg, tandis que celle de Harmla est de 64.49 µg. EqAG/mg.

D'un autre côté, les extraits éthanoliques de feuilles de Karman ont une concentration de 23,55 µg. EqAG/mg, en flavonoïdes tandis que les extraits aqueux correspondants affichent une concentration de 11,41 µg. EqAG/mg, et l'extrait éthanolique de feuilles de

Karman affiche une concentration de 23,55 μg . EqAG/mg, tandis que celle de Harmla est de 12,22 μg . EqAG/mg.

La teneur en tanins, on constate pour la région de Harmla que la teneur moyenne en tanins est plus élevée dans l'extrait éthanolique que dans l'extrait aqueux, aussi bien pour les feuilles 58.46 μg . EqAG/mg contre 55.76 μg . EqAG/mg que pour les tiges 43.59 μg . EqAG/mg contre 44.88 μg . EqAG/mg. Concernant la région Karman. Les feuilles extraites à l'eau présentent une teneur moyenne en tanins relativement faible 14.57 μg . EqAG/mg, tandis que les feuilles extraites à l'éthanol ont une teneur moyenne beaucoup plus élevée 55.29 μg . EqAG/mg.

A propos des résultats de l'activité antioxydante du romarin évalué par l'IC50% pour les différents extraits ont montré que dans la région Karman, les extraits éthanoliques présentent des valeurs d'IC50% plus faibles que les extraits aqueux, D'autre part, les valeurs d'IC50% sont plus élevées pour les extraits aqueux par rapport aux extraits éthanoliques. Concernant l'activité antibactérienne une sensibilité de certaines souches bactériennes (Gram+et Gram-) aux différents extraits.

Quant à l'activité hémolytique une diminution du pourcentage d'hémolyse à mesure que la concentration diminue et que le facteur de dilution augmente. A cet effet, les pourcentages d'hémolyse pour la région Harmla sont généralement plus faibles que ceux de la région Karman.

Abstract

Rosemary has long been recognized for its medicinal properties and its various therapeutic applications. The study of its biological properties is necessary to enhance its therapeutic potential. This study consists of phytochemical characterization followed by an evaluation of its biological properties.

Phytochemical screening shows that the aqueous extracts of the samples collected from the Harmla region "sougueur" have higher polyphenol content compared to the ethanolic extracts, with respective levels of 109.30 μg GAE/mg and 64.49 μg GAE/mg. The ethanolic extract of Karman leaves has a content of 146.19 μg GAE/mg, while Harmla has a content of 64.49 μg GAE/mg.

On the other hand, the ethanolic extracts of Karman leaves have a concentration of 23.55 μg QE/mg in flavonoids, while the corresponding aqueous extracts display a concentration of 11.41 μg QE/mg. The ethanolic extract of Karman leaves has a concentration of 23.55 μg QE/mg, while Harmla has a concentration of 12.22 μg QE/mg.

Regarding tannin content, it is observed that the average tannin content is higher in the ethanolic extract than in the aqueous extract, both for leaves (58.46 $\mu\text{g GAE/mg}$ vs. 55.76 $\mu\text{g GAE/mg}$) and stems (43.59 $\mu\text{g GAE/mg}$ vs. 44.88 $\mu\text{g GAE/mg}$) in the Harmila region. For the Karman region, water-extracted leaves have relatively low tannin content (14.57 $\mu\text{g GAE/mg}$), while ethanol-extracted leaves have a much higher average content (55.29 $\mu\text{g GAE/mg}$).

As for the antioxidant activity of rosemary evaluated by IC50%, the different extracts showed that in the Karman region, ethanolic extracts have lower IC50% values compared to the aqueous extracts. On the other hand, IC50% values were higher for the aqueous extracts compared to the ethanolic extracts.

Regarding the antibacterial activity, certain bacterial strains (Gram+ and Gram-) showed sensitivity to the different extracts.

Regarding hemolytic activity, there was a decrease in the percentage of hemolysis as the concentration decreased and the dilution factor increased. In this regard, the percentages of hemolysis for the Harmila region were generally lower than those of the Karman region.

ملخص

لطلما تم التعرف على روزماري لخصائصها الطبيعية وتطبيقاتها العلاجية المتعددة دراسة خصائصه البيولوجية ضرورية لتعظيم إمكاناته العلاجية. في هذا السياق، تتكون هذه توصيف كيميائي نباتي يتبعه تقييم لخصائصه البيولوجية الدراسة من Harmla «sougueur» يُظهر الفحص الكيميائي النباتي أن المستخلصات المائية للعينات المأخوذة من منطقة تحتوي على محتويات عالية من البوليفينول مقارنة بالمستخلصات الإيثانولية، وتعرض مستخلص الإيثيل من g. EqAG/mg. {و} 64.49 g. EqAG/mg {على التوالي محتويات 109.30 g. {هو} 64.49 Harmla في حين أن، g. EqAG/mg، {الجزء الورقي من كرمان هو} 146.19 EqAG/mg.

g. {من ناحية أخرى، فإن المستخلصات الإيثانولية من أوراق كرمان لها تركيز 23.55 g. \$ قابلة لها تركيز 11.41 الفلافونويد بينما المستخلصات المائية الم، EqAG/mg، بينما، g. EqAG/mg، {ومستخلص إيثانوليك أوراق كرمان له تركيز 23.55 EqAG/mg، Harmla's 12.22} g. EqAG/mg.

يُظهر محتوى التانين في منطقة هارملا أن متوسط محتوى التانين أعلى في المستخلص الإيثانولي منه في المستخلص {43.59} g. EqAG/mg ~ 55.76 مقابل g. EqAG/mg ~ 8.46 المائي، وكلاهما للأوراق 5 فيما يتعلق بمنطقة كرمان. الأوراق المستخرجة بالماء لها متوسط g. EqAG/mg. ~ 44.88 مقابل g. EqAG/mg في حين أن الأوراق المستخرجة بالإيثانول لها، g. EqAG/mg {14.57} محتوى تانين منخفض نسبياً يبلغ g. EqAG/mg. ~ حتى متوسط أعلى بكثير 55.29م

لمختلف %IC50 فيما يتعلق بنتائج النشاط المضاد للأكسدة لإكليل الجبل الذي قيمه %المستخلصات أظهرت أن المستخلصات الإيثانولية في منطقة كرمان لها قيم أقل بنسبة 50 من المستخلصات المائية

لمختلف %IC50 كسدة لإكليل الجبل الذي قيمه فيما يتعلق بنتائج النشاط المضاد لأ أقل من %IC50 المستخلصات أظهرت أن المستخلصات الإيثانولية في منطقة كرمان لها قيم أعلى بالنسبة للمستخلصات المائية %IC50 المستخلصات المائية، ومن ناحية أخرى، فإن قيم منها بالنسبة للمستخلصات الإيثانولية

ط المضاد للبكتيريا، هناك حساسية لسلاسل بكتيرية معينة فيما يتعلق بالنشأ لمختلف المستخلصات (Gram + و Gram -)

أما بالنسبة للنشاط الانحلالي، فإن النسبة المئوية لانحلال الدم تتخفض مع انخفاض التركيز وزيادة عامل التخفيف. ولهذا الغرض، فإن النسب المئوية لانحلال الدم في منطقة أقل عموماً من النسب المئوية في منطقة كرمان حرمة

Introduction

Les plantes médicinales ont joué un rôle crucial dans la médecine traditionnelle, et l'OMS reconnaît leur importance en tant que soins de santé primaires, avec près de 80% de la population mondiale utilisant des préparations à base de plantes (OMS, 2002).

Parmi les plantes médicinales largement utilisées, le romarin occupe une place de choix en raison de ses propriétés médicinales et ses multiples applications thérapeutiques, il est largement utilisé dans le monde entier en raison de ses bienfaits pour la santé humaine, notamment ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

Le romarin est plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées, répandue dans la région méditerranéenne spécialement au sud de l'Espagne, la France, l'Italie, la Grèce la Turquie et au nord de l'Afrique.

L'Algérie possède un cortège floristique riche et variée, le romarin faisant partie ce cortège est reparti entre l'est et l'ouest dans différentes étages bioclimatique et édaphiques avec l'existence de plusieurs variétés cultivées et sauvages.

Cette étude vise à caractériser du point de vue phytochimique le romarin provenant de différentes régions et ensuite évaluer ses propriétés biologiques particulièrement l'effet antioxydant, l'effet anti-hémolytique et enfin l'effet antimicrobien.

Synthèse
Bibliographique

1. Généralités :

Le romarin est un membre de la famille des Lamiacées, également connue sous le nom des Labiées, représentant le genre *Rosmarinus* qui ne comprend qu'une seule espèce nommée *Rosmarinus officinalis Linnaeus*, bien qu'il existe de nombreuses variétés. Des travaux antérieurs ont mentionné d'autres espèces de romarin telles que *Rosmarinus Tournefortii* en Afrique du Nord (Bouhaddouda, 2016). La famille des Lamiacées tire son nom du mot latin "labium" qui signifie "lèvre", en référence à la forme caractéristique de ses corolles. Cette famille, appartenant à l'ordre des *Lamiales*, est l'une des premières familles reconnues par les botanistes et comprend environ 260 genres et plus de 6500 espèces (Spichiger et al., 2004). Il est intéressant de noter que 40% des espèces de la famille des Lamiacées contiennent des composés aromatiques (Versek, 2007).

2. Usage traditionnel du romarin :

❖ Dans le monde

Le romarin, une plante aromatique et médicinale aux multiples bienfaits, est utilisée depuis des siècles dans des pratiques traditionnelles à travers le monde. Son utilisation remonte à l'Antiquité, où il était considéré comme une plante sacrée aux propriétés thérapeutiques (Chevallier, 2016). Dans les traditions médicales anciennes, le romarin était utilisé pour traiter une variété de maux, allant des troubles digestifs aux affections respiratoires en passant par les douleurs musculaires et les problèmes de peau.

Dans la Grèce antique, le romarin était associé à la mémoire et à la clarté mentale, et les étudiants portaient des couronnes de romarin lors des examens pour stimuler leur concentration. En Égypte, il était utilisé pour embaumer les corps et comme encens lors de rituels religieux. En Inde, le romarin était réputé pour ses propriétés anti-inflammatoires et analgésiques, et était utilisé dans la médecine ayurvédique (Chevallier, 2016).

Les différentes utilisations traditionnelles du romarin dans le monde sont basées sur ses composés actifs, tels que les flavonoïdes, les huiles essentielles et les antioxydants, qui confèrent à la plante ses propriétés bénéfiques (Ernst, 2000). Les méthodes d'utilisation traditionnelles comprennent l'infusion, l'inhalation, les bains, les lotions et les massages.

❖ En Algérie

Le romarin est largement utilisé en Algérie, avec des variations dans ses utilisations selon les régions du pays. Dans l'ouest de l'Algérie, notamment à Oran et Mostaganem, le romarin est apprécié pour ses propriétés antispasmodiques et antiseptiques, où les feuilles de romarin sont infusées pour traiter la toux, la conjonctivite et les douleurs rhumatismales. Dans l'est de l'Algérie, à Batna, Biskra et Constantine, le romarin est utilisé pour des problèmes tels que l'asthénie, la migraine et les troubles digestifs. Les fleurs de romarin sont utilisées en infusion, en inhalation et en massage. Dans l'Ouest de l'Algérie, notamment à Khenchela et Oum-el-Bouaghi, le romarin est réputé pour ses bienfaits sur le système cardiovasculaire, l'estomac et la vésicule biliaire, avec des feuilles de romarin utilisées en infusion, en extrait liquide séché et en eau distillée. Enfin, dans le nord de l'Algérie, notamment à Blida, Tlemcen et Tipaza, le romarin est utilisé pour ses propriétés antiseptiques et aromatiques, où les feuilles de romarin sont utilisées en infusion, en lotion et en eau de cologne. Ainsi, le romarin est une plante polyvalente, utilisée de différentes manières à travers l'Algérie pour ses bienfaits sur la santé et son utilisation culinaire (Mechetoun, A. 2014) (Ait Benamara, M. 1996).

3. Classification:

La classification scientifique des espèces de romarin *Rosmarinus officinales* et *Rosmarinus Tournefortii* est la suivante (Govaerts, et al 2017) :

Tableau 1. Classification scientifique des espèces de romarin

Règne	Plantae (Plantes)	Plantae (Plantes)
Division	Magnoliophyta (Magnoliophytes)	Magnoliophyta (Magnoliophytes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Ordre	Lamiales	Lamiales
Famille	Lamiaceae (Lamiacées)	Lamiaceae (Lamiacées)
Genre	Rosmarinus	Rosmarinus
Espèce	Rosmarinus officinales	Rosmarinus Tournefortii

4. Description :

❖ *R. officinalis* :

R. officinalis est un arbuste pouvant atteindre une hauteur de 2 mètres. Cette plante se distingue par une inflorescence et un calice revêtus d'une fine pilosité pruineuse formée par des poils étroitement adhérents. Les inflorescences se présentent sous la forme de courts épis, accompagnés de bractées squamiformes mesurant de 1 à 2 mm, qui tombent rapidement (Quezel et Santa, 1963).

❖ *R. Tournefortii* :

R. Tournefortii, connu également sous le nom de *R. eriocalyx* Jord. & Fourr, doit son épithète à la présence remarquable d'une couverture dense de poils sur les calices. En effet, cette espèce se distingue par une inflorescence et un calice exhibant une double pilosité : une pilosité courte et visible à l'œil nu, ainsi qu'une autre constituée de longs poils dressés glanduleux au sommet. Les inflorescences de *R. tournefortii* sont plus longues que celles de *R. officinalis* et sont accompagnées de bractées larges et cordiformes, mesurant de 3 à 4 mm (Quezel et Santa, 1963). De plus, les feuilles de *R. tournefortii* sont plus petites, mesurant de 5 à 15 mm de longueur et moins de 2 mm de largeur, avec des pédoncules floraux couverts de poils denses. Cette espèce se caractérise également par une croissance lente, atteignant généralement une hauteur de 25 cm et ne dépassant jamais 1 m, lui conférant ainsi un aspect prostré.

5. Les noms vernaculaires :

Le romarin, également connue sous les noms d'Iklil al jabal, Klil, Hatssa louban, Hassalban, Lazir, Azîir, Ouzbir, Aklel.

Le romarin est largement répandu en Algérie. Dans différentes régions du pays, elle est appelée Eklil dans la région de l'Est, Helhal dans la région de l'Ouest et Yazir dans la région du Centre. Ces noms vernaculaires reflètent la diversité linguistique et culturelle de l'Algérie, ainsi que l'importance du romarin dans la vie quotidienne des habitants de ces régions Mahmoudi (1992).

6. Répartition Géographique :

❖ *R. officinales. L* a une aire géographique spécifiquement méditerranéenne. Il est répandu dans le monde, en particulier dans les régions semi-arides et les zones forestières dégradées (Letreuch Belarouci, 1995). On le trouve principalement dans les terrains arides et ensoleillés tels que les garrigues, les maquis et les rocailles.

Synthèse Bibliographique

En Afrique, on le trouve en Algérie, au Maroc et en Tunisie. Dans la péninsule ibérique, il est largement présent en Catalogne, en Andalousie et dans le sud du Portugal. En France et au Moyen-Orient, on le trouve en Égypte, en Palestine et au Liban. Le romarin réapparaît sur le continent européen en Turquie, en Grèce, et il est abondant sur la côte dalmate et surtout en Italie. Les stations de romarin sont le plus souvent subspontanées (Vernon Et Richard, 1976).

En Algérie, dans la flore locale, les Lamiacées sont représentées par 28 genres et 146 espèces. Certains genres sont difficiles à déterminer en raison de la variabilité extrême des espèces (Bendif, 2017). Selon Bebaziez et Oudhah (1995), le romarin est l'une des espèces végétales les plus répandues en Algérie, avec une répartition à travers le territoire national (Tableau Ait Benamara, 1996).



Figure 1. Répartiyion géographique de *Rosmarinus officinales*. L (Wikipédia-2018)

- ❖ *R. tournefortii* a une capacité de développement plus élevée sur les rocailles jusqu'à une altitude de 1500 mètres. Il est souvent associé au pin d'Alep, à la sauge et au thym (Quezel Et Santa, 1963 ; Gilly, 2005). Le *R. tournefortii* est uniquement répandu en Afrique du Nord et dans le sud de l'Espagne, où il est considéré comme endémique.

En Algérie, les différentes espèces de romarin s'étendent sur une superficie de plus de 100 000 hectares (Bensebia et al., 2009) le long de la bande littorale et des hauts plateaux. Il est généralement appelé "Klil" ou "M'zir" dans les régions berbérophones. Le *R. tournefortii* semble être moins courant dans les régions côtières, l'Atlas tellien algérois et oranais, ainsi que dans les hauts plateaux du centre et de l'ouest (Quezel et Santa, 1963).

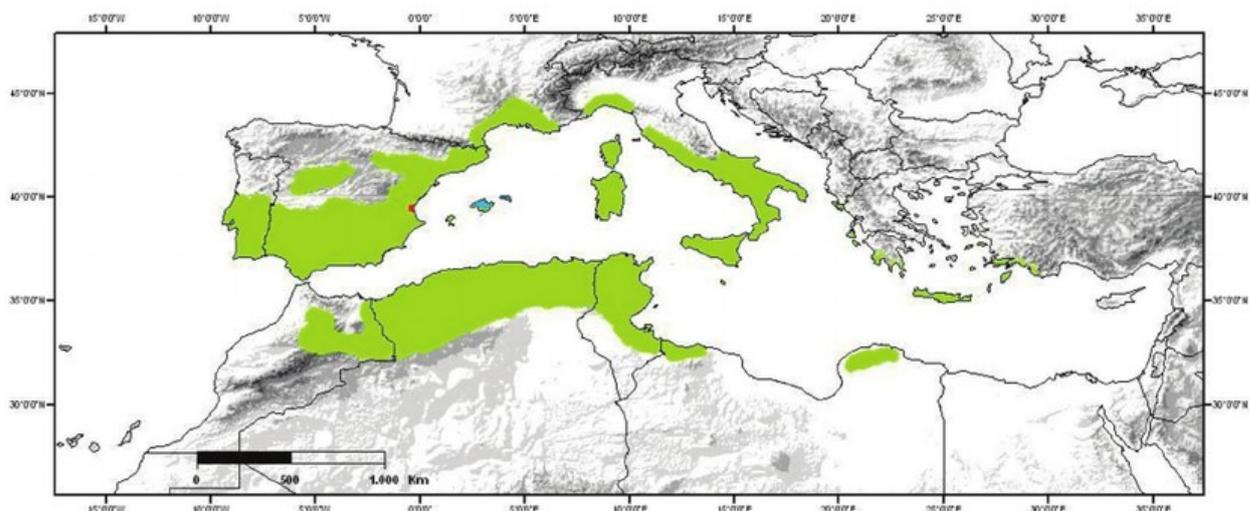


Figure 2. Carte de distribution du *Rosmarinus eriocalyx*: *R. eriocalyx* (vert) (ResearchGate 2014)

7. Propriétés chimiques :

Le romarin est une plante connue pour son parfum aromatique et ses nombreux bienfaits pour la santé. Sa composition chimique est assez diversifiée et contribue à ses propriétés thérapeutiques. Le romarin contient des huiles essentielles, notamment des composés tels que le camphre, le cinéole, le pinène, l'acétate de bornyle et la verbénone. Ces huiles sont responsables du parfum distinctif du romarin et possèdent des effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et antioxydants (Bakkali, F., et al. 2008).

Le romarin est également riche en acides phénoliques tels que l'acide rosmarinique, l'acide caféique et l'acide chlorogénique. Ces composés présentent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires puissantes (González-Trujano, M. E., et al. 2011).

Les flavonoïdes, tels que l'apigénine, le luteolol et la diosmine, sont également présents dans le romarin et contribuent à ses activités antioxydantes et anticancéreuses (Hou, C. W., et al. 2012).

Les diterpènes, tels que le carnosol, le rosmaridiphénol et l'acide carnosique, sont d'autres composés importants que l'on trouve dans le romarin. Ils présentent des effets anticancéreux, antimicrobiens et neuroprotecteurs (Cheung, S., et al. 2013).

De plus, le romarin contient des vitamines telles que la vitamine C, la vitamine A et diverses vitamines du groupe B, ainsi que des minéraux tels que le calcium, le fer et le potassium (Herrero, M., et al. 2015).

8. Activités Biologiques du Romarin :

Le romarin présente une large gamme d'activités biologiques qui contribuent à ses potentiels bienfaits pour la santé. Des études ont montré que le romarin possède de fortes propriétés antioxydantes grâce à sa teneur élevée en composés phénoliques tels que l'acide rosmarinique, l'acide caféique et l'acide chlorogénique, qui peuvent neutraliser les radicaux libres et protéger les cellules des dommages oxydatifs (González-Trujano, M. E., et al. 2011). De plus, le romarin a été reconnu pour ses effets anti-inflammatoires en inhibant la production de molécules pro-inflammatoires, réduisant ainsi l'inflammation dans le corps (Harach, T., et al. 2017).

Le romarin démontre également une activité antimicrobienne contre diverses bactéries et champignons, grâce à ses huiles essentielles contenant des composés tels que le camphre, le cinéole et le pinène (Anwar, F., et al. 2009). De plus, des recherches suggèrent que le romarin présente des effets neuroprotecteurs en réduisant le stress oxydatif et l'inflammation dans le cerveau, offrant ainsi des avantages potentiels pour la fonction cognitive et la santé neurologique (Perry, N. S., et al. 2018).

En ce qui concerne la prévention du cancer, le romarin a été étudié pour ses propriétés anticancéreuses potentielles. Des études ont montré que les extraits de romarin et leurs composants actifs, tels que l'acide carnosique et l'acide rosmarinique, peuvent inhiber la croissance des cellules cancéreuses et induire l'apoptose (mort cellulaire programmée) dans divers types de cancer (Othman, M. S., et al. 2021). De plus, les extraits de romarin ont démontré des effets gastro protecteurs en réduisant l'inflammation gastrique et en protégeant la muqueuse gastrique (Abuhamdah, S., et al. 2015).

Le romarin présente également une activité hémolytique potentielle. Des études ont démontré que certains composés du romarin, tels que l'acide rosmarinique et l'acide carnosique, peuvent induire une lyse des globules rouges (hémolyse) à certaines concentrations (de Oliveira, J. R., et al. 2014).

Partie
Expérimentale

I. Matériel et Méthode :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire de la faculté SNV de Tiaret (Université Ibn Khaldoun).

L'étude s'est étalée sur une période de trois mois (du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2023)

Matériel végétal :

Les échantillons des deux plantes : *Rosmarinus officinalis* et *Rosmarinus Tournfourtii*, ont été prélevés durant le mois de mars 2023 de deux régions de la wilaya de Tiaret, il s'agit respectivement d'un site à Karman(Tiaret), et d'un lieu dit « Harmla. » situé à Sougueur.



Figure 3. Sites d'échantillonnage (originale, 2023)

La préparation des plantes en vue de leur extraction commence par le séchage des feuilles dans un environnement sombre et sec, une étape cruciale visant à éliminer l'excès d'humidité et à préserver la qualité des composés actifs présents dans la plante. Une fois que les feuilles sont complètement déshydratées, elles sont réduites en une poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est ensuite soigneusement préservée dans des flacons en verre, en les maintenant à l'abri de la lumière.

1. Extraction par macération :

1.1.1. Principe :

La macération est une méthode courante d'extraction des composés actifs des plantes, utilisant des solvants tels que l'éthanol et l'eau. Dans la macération éthanolique, la poudre de

Partie Expérimentale

plante est mise en contact avec d'éthanol, permettant aux principes actifs de se dissoudre et de former un extrait concentré. La macération aqueuse utilise de l'eau comme solvant pour extraire les composés hydrosolubles. Ces méthodes d'extraction sont utilisées pour obtenir des extraits riches en composés actifs, pouvant être utilisés dans la recherche pharmaceutique et la production de produits naturels à base de plantes.

I.1.2. Mode opératoire :

Pour l'extraction éthanolique, on utilise 50 g de matière sèche de romarin (tiges et feuilles) finement broyée, qui est ensuite immergée dans 500 ml d'éthanol à 70%. Après une agitation de 20 minutes et une macération de 24 heures, le mélange est filtré. Ensuite, il est soumis à une évaporation à 40°C à l'aide d'un Rota Vapeur. Pour l'extraction aqueuse, le même processus est suivi, mais l'éthanol est remplacé par de l'eau distillée. Ces extraits sont utilisés pour diverses applications, notamment des tests chimiques et des études biologiques.



Figure 4. Evaporation à 40°C (Rota vapeur)



Figure 5. Agitation de l'échantillon



Figure 6. Extrait final

1.2. Rendement des extraits :

La poudre obtenue a été réservée et mise à l'abri jusqu'à utilisation.

Le rendement en extrait sec exprimé en pourcentage est calculé d'après la formule suivante :

$$RDT\% = M \text{ extrait} / M0 \text{ échantillon} \times 100$$

RDT% : rendement en pourcentage

M : poids de l'extrait sec (g)

M0: poids de l'échantillon en poudre (g)

2. Dosage spectrophotométrique :

2.1. Dosage des polyphénols totaux :

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu.

2.1.1. Principe :

Les composés phénoliques sont entièrement oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Ce réactif, de couleur jaune, subit une réduction lors de l'oxydation des phénols, ce qui entraîne la formation d'un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration bleue qui en résulte est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents et atteint une absorbance maximale d'environ 765 nm (Ojeil et al., 2010). Dans notre cas, la réaction d'oxydation est accélérée en milieu alcalin grâce à l'ajout de carbonate de sodium (Collin and Crouzet, 2011).

2.1.2. Mode opératoire :

Chaque extrait a été mélangé avec 200 µl de volume à 1 ml de Folin-Ciocalteu. Les solutions ont été combinées et laissées incuber pendant 5 minutes. Après l'incubation, 800 µl de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) ont été ajoutés. Le mélange final a été agité puis incubé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. Ensuite, l'absorbance de la couleur bleue résultante a été mesurée à une longueur d'onde de 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La détermination du contenu phénolique total a été réalisée en utilisant une version légèrement modifiée de la méthode décrite par Nazari Formagio et al. (2014).

Pour préparer le blanc, la même procédure a été suivie, à l'exception que l'extrait a été remplacé par le solvant.

2.2. Dosage des flavonoïdes:

La méthode de quantification des flavonoïdes dans nos extraits est basée sur l'utilisation du trichlorure d'aluminium (AlCl_3), comme mentionné par (Djeridane et al., 2006) et (Boudiaf, 2006). La raison principale de choisir cette classe de polyphénols est due au fait que les flavonoïdes sont considérés comme la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà répertoriés (Gómez-Caravaca et al., 2006).

2.2.1. Principe :

Les flavonoïdes contiennent un groupe hydroxyle (OH) libre en position 5, qui peut former un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium en présence du groupement CO. L'ajout de la solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) conduit à la formation d'une teinte jaunâtre.

La formule du complexe entre le chlorure d'aluminium et un composé phénolique O-hydroxycarbonylé est présentée ci-dessous :

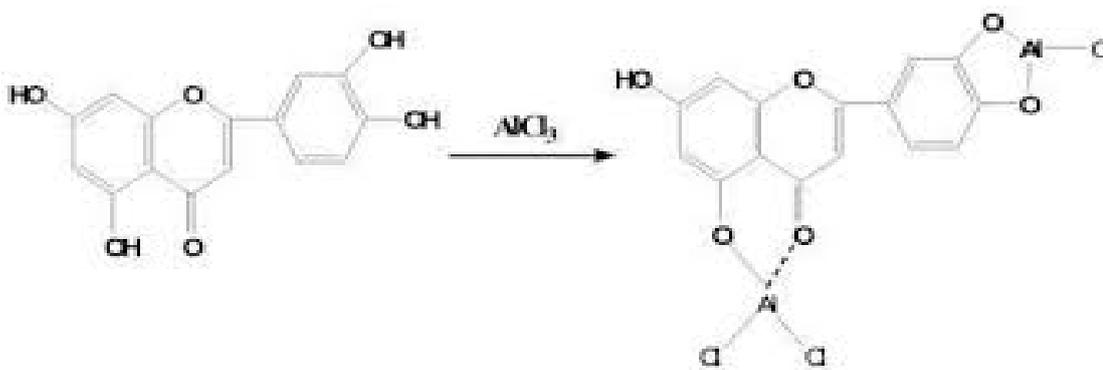


Figure 7 Réaction entre Chlorure d'aluminium et les Flavonoïdes

L'ajout de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) provoque la formation d'un complexe jaune avec les flavonoïdes. Ce complexe présente une absorption maximale à 430 nm, et son intensité est directement proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présents dans l'échantillon.

2.2.2. Mode opératoire :

Pour chaque échantillon ainsi que pour l'étalon (préparé dans l'Ethanol 50 %), 1 ml de l'extrait [2 mg/ml] est ajouté à 1 ml de solution d' AlCl_3 (2 % dissous dans du méthanol). Après une incubation de 15 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 430 nm. La détermination du contenu total de flavonoïdes a été réalisée selon la procédure décrite par Acharya et al. (2015).

2.3. Dosage des tanins totaux :

La détermination des niveaux de tanins dans les extraits de plantes est essentielle pour évaluer leur teneur en composés phénoliques. Une méthode couramment utilisée est la méthode vanilline-HCl, qui est basée sur la réaction entre les tanins et la vanilline en présence d'acide chlorhydrique (HCl). La réaction conduit à la formation d'un complexe coloré, qui peut être quantifié en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde spécifique. Cette méthode offre un moyen simple et fiable d'estimer les concentrations de tanins dans divers échantillons (Sun et al., 1998).

2.3.1. Principe :

La méthode vanilline-HCl repose sur le principe suivant : les tanins présents dans l'échantillon réagissent avec la vanilline dans un environnement acide pour former un complexe coloré, qui présente une absorption maximale à une longueur d'onde de 550 nm. L'intensité de la couleur développée est directement proportionnelle à la concentration de tanins dans l'échantillon. La réaction implique la condensation de la vanilline avec les tanins, ce qui entraîne la formation d'un adduit vanilline-tanin. Les conditions acides fournies par l'acide chlorhydrique accélèrent la réaction et stabilisent le complexe formé (Waterman et al., 1994).

2.3.2. Mode opératoire :

50 µl de l'extrait de plante sont prélevés, puis 1,5 ml d'une solution de vanilline à 4 % dans du méthanol sont ajoutés. Le mélange est agité vigoureusement pour obtenir une homogénéité. Ensuite, 750 µl d'acide chlorhydrique (HCl) pur sont ajoutés. Après cela le mélange est incubé à 25 °C pendant 20 minutes, Une fois la réaction terminée, l'absorbance de la solution obtenue est mesurée à 550 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. . La détermination du contenu total de tanins a été réalisée selon la procédure décrite par Haddouchi & al. (2016)

3. Evaluation des activités biologiques :

3.1. Activité antioxydante:

3.1.1. Piégeage du radical libre par DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazil):

Pour étudier l'activité antiradicalaire de nos extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH, selon le protocole décrit par (Masuda et al., 1999).

3.1.2. Principe:

La méthode 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un test standard utilisé pour évaluer les propriétés antioxydantes. Elle consiste à mesurer la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le DPPH est un radical stable soluble dans le méthanol ou l'éthanol, qui présente une absorption caractéristique à 517 nm, lui conférant une couleur violette. La couleur passe du violet au jaune lorsque le DPPH est réduit en diphenypicrylhydrazine par un capteur de radicaux libres. L'intensité du changement de couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans l'échantillon (Maataoui et al., 2006 ; Sanchez-Moreno, 2002). Ce changement de couleur est suivi à l'aide d'un spectrophotomètre.

La réaction peut être résumée sous la forme de l'équation :



Où AH est un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH pour le transformer au DPPH-H.

Du point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant les groupes SH, NH et OH (Salah et al., 1995).

3.1.3. Mode opératoire :

Pour préparer les échantillons, 200 µL de différentes concentrations des extraits sont mélangés avec 1 mL d'une solution de DPPH à une concentration de 0,002 %. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante et dans l'obscurité, les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La solution méthanolique du DPPH est utilisée comme contrôle négatif. (Kumar et al. 2007).

3.2. Activité antibactérienne :

Le principe de la détection de l'activité antibactérienne repose sur la diffusion des agents antimicrobiens dans un milieu de culture solide ou semi-solide afin d'inhiber la croissance d'un micro-organisme indicateur sensible. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits est réalisée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose.

L'apparition et la taille du diamètre de la zone d'inhibition reflètent l'impact des extraits sur les souches bactériennes.

3.2.1. Matériel biologique :

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont couramment rencontrées dans différentes pathologies chez l'homme. Ces souches appartiennent au Laboratoire de Microbiologie, Salle 2, Labo B, Faculté des Sciences de la Vie et de la Nature, IBN KHALDOUN Tiaret :

Escherichia coli : (Gram négatif) Une bactérie caractérisée par une sporulation anaérobie non facultative, présente dans l'intestin, les selles des animaux et reptiles à sang chaud, ainsi que dans le microbiote intestinal (Tenailon, 2010). Cependant, certaines souches d'E. coli ont été identifiées comme pathogènes pour l'homme, causant diverses affections allant de simples diarrhées à des infections systémiques potentiellement mortelles (Dunière et al., 2012).

Pseudomonas aeruginosa (Gram négatif): L'agent pathogène le plus couramment rencontré, provoquant une infection chronique (Pressler, 2011).

Partie Expérimentale

Staphylococcus aureus : (Gram positif) Responsable d'intoxications alimentaires, d'infections locales purulentes et, dans certains cas extrêmes, de septicémies chez les sujets ayant subi une greffe ou portant une prothèse cardiaque (Delphine, 2008).

3.2.2. Préparation de la suspension bactérienne :

À partir de colonies jeunes (âgées de 18 à 24 heures), une suspension bactérienne est préparée dans de l'eau physiologique ajustée à une turbidité de 0,5 McFarland. La densité bactérienne de la suspension obtenue est d'environ 0,9 à une longueur d'onde de 625 nm.

3.2.3. Préparation du milieu de culture :

Le milieu de culture est constitué d'une seule couche de gélose MH (Mueller-Hinton). Cette couche est versée en une épaisseur de 2 mm (15 à 20 ml), uniformément répartie dans des boîtes et laissée solidifier.

3.2.4. Préparation des dilutions :

Les extraits sont préparés à différentes concentrations, à partir d'une solution mère de 0,35 g/ml. À partir de cette solution mère, des dilutions de 0,25 g/ml et 0,15 g/ml sont réalisées. Ces dilutions sont dissoutes dans du DMSO (50%) (Diméthylsulfoxyde) pour l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux.

3.2.5. Préparation des disques :

Le milieu de culture solide estensemencé en inondant la suspension bactérienne pour couvrir entièrement la surface de la gélose.

Des disques (ou patches) de 6 mm de diamètre sont découpés à partir de papier Whatman, puis autoclavés à 120°C pendant 15 minutes. En utilisant une micropipette et des pinces stériles, les disques sont chargés avec 20 µl de chaque concentration préalablement préparée. Les disques sont ensuite déposés sur la surface du milieuensemencé.

3.3. Activité Hémolytique :

3.3.1. Principe :

Le test hémolytique est utilisé pour évaluer la capacité d'une substance à provoquer la lyse des érythrocytes (globules rouges). Le principe de ce test repose sur le fait que les érythrocytes sont sensibles à la lyse et que cette lyse peut être détectée par des mesures d'absorbance (Liu Y et al 2019).

Le test est généralement réalisé en incubant une suspension d'érythrocytes avec la substance testée à différentes concentrations. Une solution tampon est utilisée comme contrôle négatif, tandis qu'une substance connue pour induire une lyse maximale des érythrocytes est utilisée comme contrôle positif.

Après l'incubation, les échantillons sont centrifugés pour séparer les érythrocytes lysés (surnageant) des érythrocytes non lysés (pellet). L'absorbance du surnageant est ensuite mesurée à une longueur d'onde spécifique, généralement à 540 nm.

Un pourcentage élevé d'hémolyse indique une forte capacité de la substance testée à provoquer la lyse des érythrocytes, tandis qu'un pourcentage faible ou nul indique une absence d'effet hémolytique. Le test hémolytique est largement utilisé dans la recherche biomédicale pour évaluer la toxicité potentielle de substances sur les cellules sanguines (Kapoor et 2003).

3.3.2. Mode opératoire:

On a prélevé cinq millilitres du sang sur un individu en bonne santé (groupe sanguin O positif) à l'aide d'un tube contenant de l'héparine. Ensuite, le sang a été centrifugé pendant trois minutes à 1500 tours par minute dans une centrifugeuse de laboratoire. Le plasma (surnageant) a été retiré et le culot a été lavé trois fois avec une solution de tampon phosphate salin (pH 7,2±0,2) en le centrifugeant à 1500 tours par minute pendant 5 minutes.

Les cellules ont été resuspendues dans une solution saline normale à 10%.

On a traité un volume de 1 ml de la suspension d'érythrocytes avec 1 ml d'extraits végétaux dilués dans la solution de tampon phosphate salin à différentes concentrations (5, 2.5 et 1.25 mg/ml). Le mélange a été incubé à 37°C dans une étuve pendant 30 minutes. Par la suite, le mélange a été centrifugé à 1500 tours par minute pendant 10 minutes. On a enregistré l'absorbance du surnageant à 540 nm.

Partie Expérimentale

Pour chaque extrait, le pourcentage d'hémolyse a été calculé en utilisant la formule suivante :

% Hémolyse = (Abs de l'échantillon - Abs du contrôle négatif) / (Abs du contrôle positif - Abs du contrôle négatif) x 100.

Dans chaque expérience, l'eau a été utilisée comme contrôle négatif, tandis que la solution tampon phosphate a été utilisée comme contrôle positif. Chaque concentration de l'extrait végétal a été testée en trois répétitions. Haddouchi et al. (2016).

Résultats

1. Extraction par macération :

1.1. Rendement des extraits :

Les résultats présentent les rendements d'extraction (RDT) des extraits éthanoliques et aqueux de différentes parties du romarin provenant des régions de Karman et Harmla, ainsi que les quantités de poudre obtenues.

En analysant les données, plusieurs observations peuvent être faites. Premièrement, les extraits éthanoliques ont généralement des RDT inférieurs à ceux des extraits aqueux, quelle que soit la partie de la plante ou la région. Par exemple, l'extrait éthanolique de feuilles de romarin Karman affiche un RDT de 11,02 %, tandis que l'extrait aqueux équivalent présente un RDT de 12,4 %. Deuxièmement, les RDT varient en fonction de la partie de la plante et de la région. Ainsi, les extraits éthanoliques des tiges de romarin Harmla ont un RDT de 18,004 %, tandis que les extraits aqueux équivalents ont un RDT de 19 %. En comparaison, les extraits éthanoliques de feuilles de romarin Harmla et les extraits aqueux de tiges de romarin Karman ont les RDT les plus bas. Ces résultats mettent en évidence les variations des rendements d'extraction en fonction du solvant, de la partie de la plante et de la région, ce qui peut avoir des répercussions sur la quantité de poudre obtenue.

Tableau 2. Rendement des extraits

Extrait	EE RKF	EA RKF	EE RKT	EA RKT	EE RHF	EA RHF	EE RHT	EA RHT
Poudre (g)	5,51	6.2	4.7	4.3	9.002	9.5	4.2	2.7
RDT (%)	11.02	12.4	9.4	8.6	18.004	19	8.4	5.4

2. Dosage spectrophotométrique :

2.1. Dosage des polyphénols totaux:

En analysant les données, plusieurs observations peuvent être tirées. Acet effet, les extraits aqueux la région de Harmla, présentent des teneurs plus élevées que les extraits éthanoliques, quel que soit la partie de la plante considérée. Par exemple, l'extrait aqueux de la partie des feuilles de Harmla affiche une teneur de 109.30 $\mu\text{g. EqAG/mg}$, tandis que l'extrait éthanolique équivalent de la même région et de la même partie de plante a une teneur de 64.49 $\mu\text{g. EqAG/mg}$. Deuxièmement, on observe généralement des teneurs plus élevées dans les extraits de la région de Karman par rapport à ceux de Harmla, avec quelques exceptions. Par exemple, l'extrait éthanolique de la partie des feuilles de Karman présente une teneur de 146.19 $\mu\text{g. EqAG/mg}$, tandis que celle de Harmla est de 64.49 $\mu\text{g. EqAG/mg}$. Cependant, il est à noter que l'extrait aqueux de la partie des tiges de Harmla présente une teneur légèrement supérieure à celle de Karman (184.00 $\mu\text{g. EqAG/mg}$ contre 141.19 $\mu\text{g. EqAG/mg}$). Ces résultats mettent en évidence des différences significatives dans les teneurs en substances extraites entre les régions et les types d'extraction, ainsi que des variations dans les propriétés chimiques des extraits en fonction des parties de la plante utilisée.

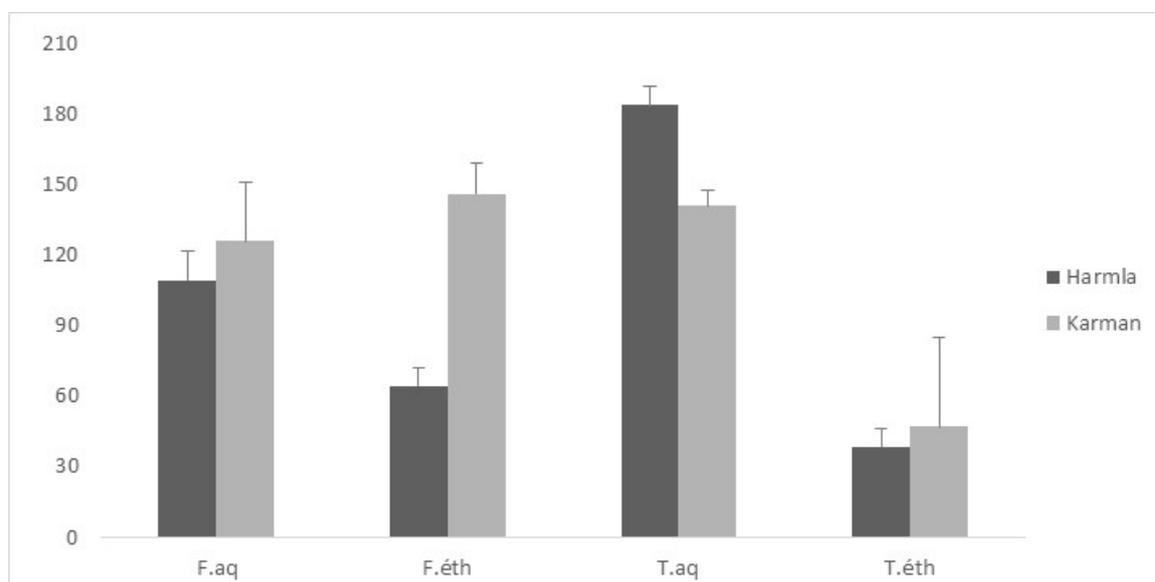


Figure 8. Teneur en polyphénols totaux des extraits étudiés (en $\mu\text{g. EqAG/mg}$)

2.2. Dosage des flavonoïdes totaux:

Les extraits sont catégorisés en fonction de la région, du type d'extraction (éthanolique ou aqueux) et de la partie de la plante (feuilles ou tiges). Une tendance est remarquée : les extraits éthanoliques présentent des concentrations plus élevées en flavonoïdes totaux que les

extraits aqueux, indépendamment de la région ou de la partie de la plante. Par exemple, les extraits éthanoliques de feuilles de Karman ont une concentration de 23,55 $\mu\text{g. EqAG/mg}$, tandis que les extraits aqueux correspondants affichent une concentration de 11,41 $\mu\text{g. EqAG/mg}$. De plus, les extraits de la région de Karman ont tendance à présenter des teneurs plus élevées en flavonoïdes totaux par rapport à ceux de Harmla, bien qu'il y ait quelques exceptions. Par exemple, l'extrait éthanolique de feuilles de Karman affiche une concentration de 23,55 $\mu\text{g. EqAG/mg}$, tandis que celle de Harmla est de 12,22 $\mu\text{g. EqAG/mg}$. Cependant, il est intéressant de noter que l'extrait aqueux de tiges de Harmla présente une concentration légèrement supérieure à celle de Karman (14,04 $\mu\text{g. EqAG/mg}$ contre 12,70 $\mu\text{g. EqAG/mg}$).

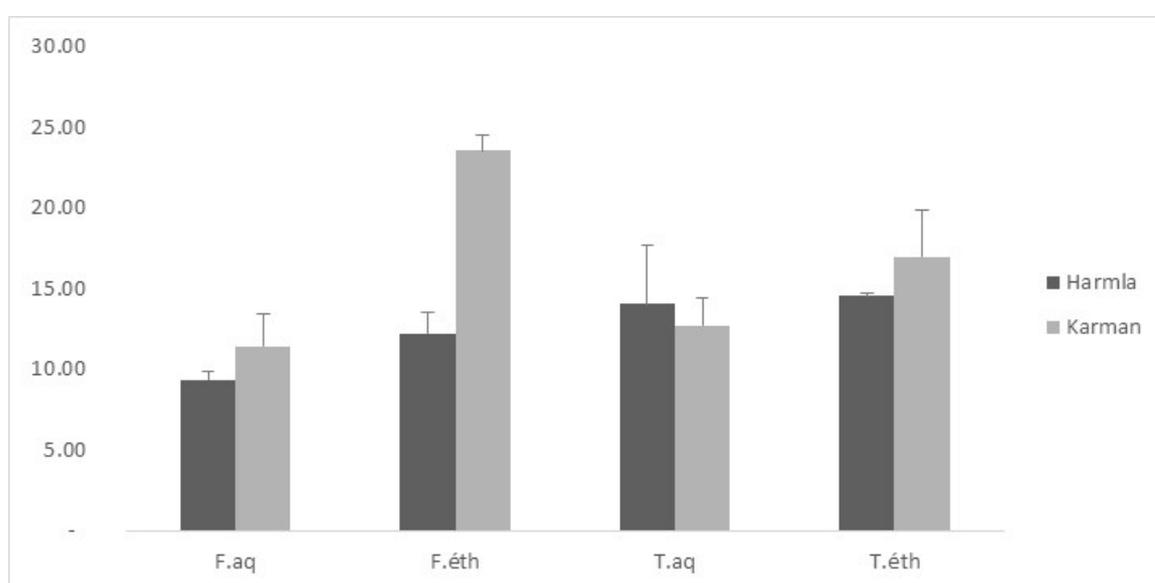


Figure 9. Teneur en flavonoïdes totaux des extraits étudiés (en $\mu\text{g. EqAG/mg}$)

2.3. Dosage des tanins totaux des extraits :

Le graphe présente deux régions différentes, Harmla et Karman, et les extraits utilisés sont aqueux et éthanoliques. Les parties de plante analysées sont les feuilles et les tiges. On peut observer que les teneurs moyennes en tanins varient considérablement selon la région, l'extrait et la partie de plante.

Pour la région Harmla, on constate que la teneur moyenne en tanins est plus élevée dans l'extrait éthanolique que dans l'extrait aqueux, aussi bien pour les feuilles (58.46 $\mu\text{g. EqAG/mg}$ contre 55.76 $\mu\text{g. EqAG/mg}$) que pour les tiges (43.59 $\mu\text{g. EqAG/mg}$ contre 44.88 $\mu\text{g. EqAG/mg}$).

En revanche, pour la région Karman, la teneur moyenne en tanins diffère significativement entre les extraits et les parties de plante. Les feuilles extraites à l'eau

Résultats

présentent une teneur moyenne en tanins relativement faible (14.57 $\mu\text{g. EqAG/mg}$), tandis que les feuilles extraites à l'éthanol ont une teneur moyenne beaucoup plus élevée (55.29 $\mu\text{g. EqAG/mg}$). Pour les tiges, les résultats sont encore plus marqués, avec une teneur moyenne en tanins de 63.38 $\mu\text{g. EqAG/mg}$ pour l'extrait aqueux et de 73.22 $\mu\text{g. EqAG/mg}$ pour l'extrait éthanolique.

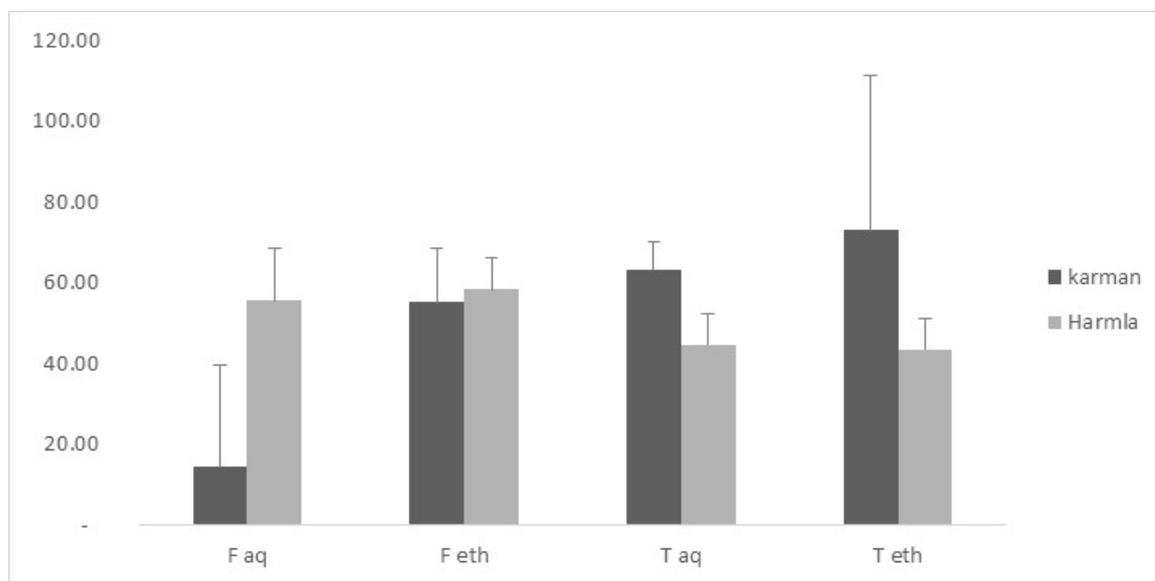


Figure 10. Teneur en tanins totaux des extraits étudiés (en $\mu\text{g. EqAG/mg}$)

3. Evaluation des activités biologiques :

3.1. Activité antioxydante:

Le tableau met en évidence les résultats de l'étude sur l'activité antioxydante du romarin en mesurant les valeurs d'IC50% pour différents extraits de feuilles et de tiges des régions Karman et Harmla. L'IC50% représente la concentration à laquelle l'extrait inhibe 50% de radicaux libres, indiquant ainsi son efficacité en tant qu'antioxydant.

En analysant les données, on constate des variations des valeurs d'IC50% en fonction de la région, de l'extrait et de la partie de la plante. Dans la région Karman, les extraits éthanoliques présentent des valeurs d'IC50% plus faibles que les extraits aqueux, ce qui suppose qu'il y a une activité antioxydante plus élevée pour les extraits éthanoliques. De plus, les extraits éthanoliques des tiges affichent des valeurs d'IC50% légèrement plus élevées que les extraits éthanoliques de feuille, indiquant une activité antioxydante potentiellement plus faible pour les extraits des tiges.

Dans la région Harmla, la tendance est similaire avec des valeurs d'IC50% plus élevées pour les extraits aqueux par rapport aux extraits éthanoliques. Cependant, contrairement à la région Karman, les extraits de tige présentent des valeurs d'IC50% légèrement inférieures à celles des extraits de feuille, suggérant une activité antioxydante potentiellement plus élevée pour les extraits de tige dans la région Harmla.

Tableau 3. Les valeurs d'IC50% pour différents extraits du romarin

Region	Extrait	IC50%
Karman	Extrait aqueux (Feuille)	0.649
	Extrait aqueux (Tige)	0.678
	Extrait éthanolique (Feuille)	0.254
	Extrait éthanolique (Tige)	0.374
Harmla	Extrait aqueux (Feuille)	0.874
	Extrait aqueux (Tige)	0.847
	Extrait éthanolique (Feuille)	1.023
	Extrait éthanolique (Tige)	0.634

3.2. Activité antibactérienne :

L'extrait éthanolique du romarin de la région de Karman obtenu à partir des feuilles a montré des diamètres d'inhibition de 13 mm contre *E. coli*, 14 mm contre *P. aeruginosa* et 9 mm contre *S. aureus* à une concentration de 0,35 g/ml, indiquant une sensibilité de ces bactéries à cet extrait. Des diamètres d'inhibition similaires ont été observés à des concentrations de 0,25 g/ml et 0,15 g/ml, confirmant ainsi l'activité antibactérienne du romarin contre ces souches bactériennes.

L'extrait éthanolique du romarin de la région de Karman provenant des tiges a montré des diamètres d'inhibition de 10 mm contre *E. coli*, 11 mm contre *P. aeruginosa* et 11 mm contre *S. aureus* à une concentration de 0,35 g/ml, indiquant également une sensibilité de ces bactéries à cet extrait. Cependant, à des concentrations de 0,25 g/ml et 0,15 g/ml, une résistance partielle contre *E. coli* et *P. aeruginosa* a été observée, tandis que *S. aureus* est restée sensible.

Ces résultats laissent croire que les extraits éthanoliques des feuilles ou des tiges de la région de Karman, présentent une activité antibactérienne. Ils ont affiché une efficacité plus élevée contre *E. coli* et *P. aeruginosa* par rapport à *S. aureus*.

Résultats

Tableau 4. Diamètre d'inhibition (mm) des différentes souches testées avec deux extrait de la région de Karman

Extrait	[C]	Bactérie	Gram	Diamètre d'inhibition	Interprétation
Extrait éthanolique du romarin de la région de Karman (Feuille)	0.35 g/ml	E.coli	-	13 mm	Sensible
		P.aeruginosa	-	14 mm	Sensible
		S. aureus	+	9 mm	Sensible
	0.25 g/ml	E.coli	-	12 mm	Sensible
		P.aeruginosa	-	10 mm	Sensible
		S. aureus	+	12 mm	Sensible
	0.15 g/ml	E.coli	-	10 mm	Sensible
		P.aeruginosa	-	10 mm	Sensible
		S. aureus	+	12 mm	Sensible
Extrait Ethanolique du Romarin de la région de Karman (Tige)	0.35 g/ml	E.coli	-	10 mm	Sensible
		P.aeruginosa	-	11 mm	Sensible
		S. aureus	+	11 mm	Sensible
	0.25 g/ml	E.coli	-	7 mm	Résistante
		P.aeruginosa	-	12 mm	Sensible
		S. aureus	+	10 mm	Sensible
	0.15 g/ml	E.coli	-	6 mm	Résistante
		P.aeruginosa	-	7 mm	Résistante
		S. aureus	+	9 mm	Sensible

3.3. Activité Hémolytique :

Le graphique ci-dessous présente les résultats des tests d'hémolyse pour deux régions différentes, Karman et Harmila, avec deux types d'extraits, EA (extrait aqueux) et EE (extrait éthanolique), et trois facteurs de dilution (RF 1, RF 2 et RF 3 pour une dilution de 5 mg/ml, 2.5 mg/ml et 1.25 mg/ml respectivement). Le pourcentage d'hémolyse est utilisé pour évaluer l'effet des extraits sur la destruction des globules rouges.

En examinant les résultats, on peut constater que le pourcentage d'hémolyse varie en fonction de la région, de l'extrait et du facteur de dilution utilisés. Pour la région Karman, on observe une valeur faible du pourcentage d'hémolyse au fur et à mesure que la concentration diminue et que le facteur de dilution augmente. Cela indique que des concentrations plus élevées et des dilutions plus faibles ont un impact plus important sur l'hémolyse.

En comparant les extraits, on constate que l'extrait éthanolique (EE) a généralement un effet moins prononcé sur l'hémolyse par rapport à l'extrait aqueux (EA). Les pourcentages

Résultats

d'hémolyse sont significativement plus faibles pour l'extrait éthanolique, en particulier aux concentrations les plus élevées et aux dilutions les plus fortes.

En ce qui concerne la région Harmla, les tendances sont similaires à celles observées pour la région Karman, avec une diminution du pourcentage d'hémolyse à mesure que la concentration diminue et que le facteur de dilution augmente. Cependant, les pourcentages d'hémolyse pour la région Harmla sont généralement plus faibles que ceux de la région Karman, indiquant potentiellement des différences dans l'effet des extraits entre les deux régions.

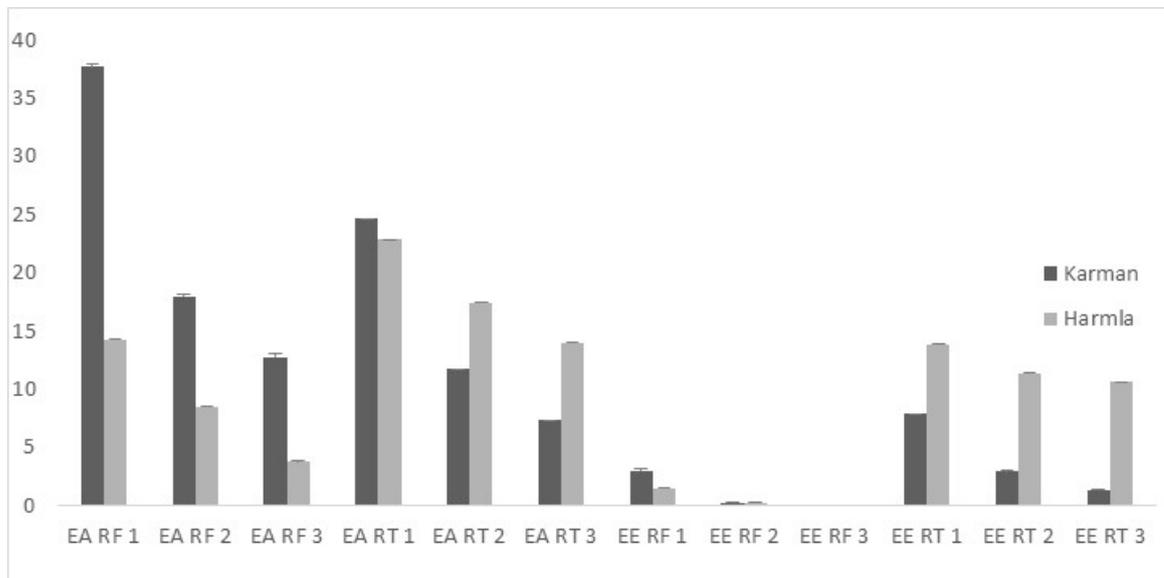


Figure 11. Résultats des tests d'hémolyse

Discussion

Discussion

Cette étude a porté sur la caractérisation phytochimique et sur l'évaluation de l'activité biologique du romarin.

La teneur en polyphénols pour les extraits de romarin varient en fonction de la région, du solvant utilisé et de la partie de la plante extraite. Les résultats obtenus montrent que la teneur en ces métabolites dans des feuilles est plus élevée que celle des tiges. Ainsi les extraits aqueux de feuilles affichent 109,3 mg/g et les extraits aqueux des tiges est de 184,0 mg/g. et ces résultats restent inférieurs à ceux trouvés par Yeddes et al. (2013) qui ont trouvé une teneur en polyphénols des feuilles de romarin variant entre 26,52 et 54,70 mg/g. cette disparité peut être attribuée à région ou de la saison de prélèvement. Par ailleurs, Zeroual et al. (2019) ont montré que la teneur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de romarin cultivé était de 141,36 mg/g, tandis que celle de l'extrait éthanolique de romarin sauvage était de 96,39 mg/g. d'autre part, Hussein et al. (2018), dans leurs travaux ont trouvé une teneur en polyphénols totaux de l'extrait de romarin de 82,25 mg/g.

Il est important de noter que la méthode d'extraction peut également influencer la teneur en polyphénols. De plus la teneur en polyphénols des extraits éthanoliques était généralement inférieure à celle des extraits aqueux, sauf pour les extraits de tiges où la teneur en polyphénols était plus élevée dans l'extrait éthanolique.

En ce qui concerne les extraits de différentes parties de la plante, les résultats montrent que la teneur en flavonoïdes totaux des feuilles est généralement plus élevée que celle des tiges. Les résultats de nos analyses ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux des extraits aqueux de feuilles était de 9,34 mg/g tandis que celle des extraits aqueux des tiges était de 14,04 mg/g. En l'occurrence Yeddes et al. (2013), ont trouvé que la teneur en flavonoïdes totaux des feuilles de romarin variait entre 13,28 et 19,47 mg/g. Dans le même contexte Zeroual et al. (2019) ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique de romarin cultivé était de 26,09 mg/g, tandis que celle de l'extrait éthanolique de romarin sauvage était de 20,91 mg/g; et Hussein et al. (2018), ont trouvé que la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait de romarin était de 17,31 mg/g.

En ce qui concerne le solvant d'extraction, les résultats montrent que la teneur en flavonoïdes totaux est généralement plus élevée dans les extraits éthanoliques que dans les extraits aqueux. Cela a été observé dans la région de Harmla ainsi que dans la région de Karman, Djeridane et al. (2006).

Discussion

En ce qui concerne les extraits de différentes parties de la plante, les résultats obtenus montrent que la teneur en tanins des tiges est généralement plus élevée que celle des feuilles. Gómez et al. (2007). Ainsi, la teneur en tanins des extraits aqueux de tiges était de 44,88 mg/g tandis que celle des extraits aqueux de feuilles était de 55,76 mg/g. Nos résultats sont loin d'être comparables avec ceux trouvés par Yeddes et al. (2013), la teneur en tanins des feuilles de romarin variait entre 4,48 et 6,13 mg/g en fonction de la région et de la saison. Zeroual et al. (2019) ont montré que la teneur en tanins de l'extrait éthanolique de romarin cultivé était de 88,67 mg/g, tandis que celle de l'extrait éthanolique de romarin sauvage était de 80,54 mg/g. Dans l'étude de Hussein et al. (2018), la teneur en tanins de l'extrait de romarin était de 50,56 mg/g.

D'autres parts, la teneur en tanins des extraits éthanoliques était généralement supérieure à celle des extraits aqueux, sauf pour les extraits de feuilles où la teneur en tanins était plus élevée dans l'extrait aqueux. Dans l'étude de Zeroual et al. (2019), la teneur en tanins de l'extrait éthanolique était plus élevée que celle de l'extrait aqueux.

Les résultats de l'étude sur l'activité antioxydante montrent des variations en fonction de la région, de la partie de la plante et du type d'extraction. D'un autre côté, nous notons qu'il y a une corrélation entre la concentration des polyphénols et l'activité antioxydante, ce qui confirme que les polyphénols sont des antioxydants puissants capables d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules. Ces résultats sont conformes à ceux de plusieurs auteurs qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante, Fadili et al. (2015), Djeridane et al. (2006).

En effet Falleh, H. et al (2008) a montré que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante Heim et al (2002).

L'activité antibactérienne a été confirmée dans les extraits éthanoliques provenant des feuilles et des tiges de la région de Karman, contre *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Ces résultats s'accordent avec une étude menée par Balouiri. (2011) sur l'effet antibactérien de l'extrait éthanolique de *R. officinalis* à donner un effet remarquable de l'extrait vis à vis de *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 11 mm.

Discussion

Par ailleurs, Nos résultats se rapprochent également avec ceux trouvés par l'étude de Makhloufi en (2017) puisque l'extrait éthanolique des parties aériennes de *R. officinalis* exerçait l'effet antibactérien moyen vis-à-vis *S. aureus* avec des diamètres de zones d'inhibition comprise entre 11 et 18 mm.

Les résultats sur l'activité hémolytique indiquent des pourcentages d'hémolyse plus faibles pour les extraits éthanoliques et des différences entre les régions Harmila et Karman. D'autre part les résultats montrent qu'avec la diminution de la concentration, la valeur du pourcentage d'hémolyse a également diminué dans toutes les extraits. Ces résultats sont en concordance avec ceux de Ayesha. Anwar et al (2023). Cependant, il existe une différence remarquable dans les pourcentages d'hémolyse par rapport à nos résultats, ce qui pourrait être dû à la méthode d'extraction ou au solvant utilisé.

Les résultats de cette étude montrent que le romarin possède une composition phytochimique intéressante et également une activité antioxydante, hémolytique et antimicrobienne, avec des variations en fonction de la région, de la partie de la plante et du type d'extraction. Nos résultats sont cohérents avec plusieurs autres études sur le romarin, bien qu'il y existe également des différences dans certains résultats qui nécessitent une étude plus approfondie. Les résultats de cette étude peuvent contribuer à la compréhension de la composition chimique et de l'activité biologique du romarin et peuvent avoir des implications potentielles dans la recherche de nouveaux agents thérapeutiques naturels.

Conclusion

Conclusion

Les résultats de cette étude ont des implications potentielles dans la recherche de nouveaux agents thérapeutiques naturels. Ils peuvent contribuer à la compréhension de la composition chimique et de l'activité biologique du romarin. Cependant, il est important de noter que certains résultats sont en désaccord avec d'autres études, ce qui souligne la nécessité de mener des recherches plus approfondies.

En conclusion, cette étude a permis de caractériser phytochimiquement le romarin provenant de différentes régions de l'Algérie. Les résultats ont montré que les extraits aqueux de la région Harmla "Sougueur" présentent des teneurs élevées en polyphénols 109.30 µg. EqAG/mg par rapport aux extraits éthanoliques 64.49 µg. EqAG/mg, tandis que l'extrait éthanolique de la partie des feuilles de Karman présente une teneur plus élevée en polyphénols 146.19 µg. EqAG/mg que celle de Harmla 64.49 µg. EqAG/mg.

De plus, l'activité antioxydante du romarin évalué par l'IC50% a montré des valeurs plus faibles pour les extraits éthanoliques de Karman comparativement aux extraits aqueux (entre 0.254 mg/ml et 0.374 mg/ml), avec des valeurs d'IC50% plus élevées pour les extraits aqueux (entre 0.649 mg/ml et 0.678 mg/ml).

En termes d'activité antibactérienne, une sensibilité a été observée chez certaines souches bactériennes (Gram+ et Gram-) aux différents extraits. Enfin, l'activité anti-hémolytique a montré une diminution du pourcentage d'hémolyse avec une diminution de la concentration et une augmentation du facteur de dilution, avec des pourcentages d'hémolyse plus faibles pour la région Harmla.

En conclusion, les résultats de cette étude sur l'activité biologique du romarin ajoutent à la littérature existante et aident à saisir la complexité de cette plante. Ils sont cohérents avec plusieurs autres études antérieures et soulignent le potentiel de cette plante en tant que source naturelle d'antioxydants et d'agents antimicrobiens.

Références
Bibliographie

Références Bibliographie

- Abdallah, E. M., et al. (2018). *Rosmarinus officinalis* L. as an emerging source of antimicrobial agents: a review of biochemical and therapeutic potentials. *African Journal of Microbiology Research*, 12(23), 578-591.
- Abdul-Hakeem Daham Hussein, Hussein Jasim Alhadithi, Sara Thamer Hadi, (2018) Estimation of Total Phenolic Compounds, Essential Oils and Antibacterial Activity of Tannins and Glycosides Extracted from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and Wild Mint (*Mentha longifolia* L.).
- Abuhamdah, S., et al. (2015). Rosmarinic acid antagonized hydrogen peroxide-induced oxidative stress in SH-SY5Y cells through increased expression of Nrf2/HO-1 and antioxidant enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 101-109.
- Acharya, N. S., Sasmal, D., & Patra, J. K. (2015). In-vitro antioxidant and free radical scavenging activity of *Scoparia dulcis* Linn. Leaf extract. *Journal of Coastal Life Medicine*, 3(9), 677-682. doi:10.12980/jclm.3.2015j5-229
- Ahmed Zeroual, El Hassan Sakar , Fatima Mahjoubi , Mahdi Chaouch , Abdellah Chaqroune , Mustapha Taleb (2019). Effects of Extraction Technique and Solvent on Phytochemicals, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Cultivated and Wild Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Taounate Region (Northern Morocco) p 7-9
- Ait Benamara, M. (1996). *Flore du Sahara*. Editions Le Fennec.
- Anwar, F., et al. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and their potential applications in food industry. *Food Chemistry*, 115(1), 370-376.
- Bakkali, F., et al. (2008). Antioxidant activity and chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis*, *Thymus zygis*, and *Mentha piperita* from Morocco. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), 9570-9575.
- Balouiri M. (2011). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de Plantes Médicinales et Aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques -Taounate. Mémoire de Master en science et technique. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. p : 4-68
- Belboukhari, N., et al. (2016). Essential oils from Algerian rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) cultivated in the Cheliff region. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(5), 310-317.
- Bendif, H., et al. (2020). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (Northwest of Algeria). *Journal of Medicinal Plant Research*, 14(2), 41-51.

Références Bibliographie

- Borrás-Linares, I., et al. (2014). Rosmarinus officinalis leaves as a natural source of bioactive compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20585-20606.
- BOUCHELOUKH Nassima, KADJA Takia (2018), Etude botanique et phytochimique de la plante médicinale Rosmarinus officinalis L. p 57-58
- Boudiaf, K., (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigella sativa. Mémoire de magister. Setif.
- Bouhaddouda, H., et al. (2016). Composition chimique et activités antimicrobiennes des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. et Rosmarinus tournefortii de l'Algérie. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(2), 539-545.
- Cheung, S., et al. (2013). Anti-inflammatory activities of essential oils and their constituents from different provenances of indigenous rosemary (Rosmarinus officinalis L.) on culture human macrophage cells. *Bioresource Technology*, 130, 871-877.
- Chevallier, A (2016). L'encyclopédie des plantes bio-indicatrices alimentaires et médicinales : Guide de diagnostic des sols. Éditions Promonature.
- Collin, S., Crouzet, J., (2011). Polyphénols et procédés : transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier.
- De Oliveira, J. R., et al. (2014). Hemolytic activity of Rosmarinus officinalis essential oil, sodium benzoate, and its synergistic effect against Escherichia coli. *Journal of Medicinal Food*, 17(8), 908-911.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry* 97, 654-660.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- Donadu, M. G., et al. (2020). Antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean aromatic plants against several foodborne and spoilage bacteria. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 3085-3096.
- Douëllou, T.; Delannoy, S.; Ganet, S.; Mariani-Kurkdjian, P.; Fach, P.; Loukiadis, E.; Montel, Mc.; Thevenot-Sergentet, D. (2016). *Shiga toxin-producing Escherichia coli strains isolated from dairy products — Genetic diversity and virulence gene profiles. International Journal of Food Microbiology*, (), S0168160516302100. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.

Références Bibliographie

2016.04.032 Dysidea. Mémoire master. Ecole de Chimie Physique et Electronique de Lyon. P 68.

- Ernst, E. (2000). Herbal medicinal products during pregnancy: are they safe? *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 107(3), 247-251.
- Fadili K., Amalich S., N'dedianhoua S.K., Bouachrine M., Mahjoubi M., El Hilali F et Zair T. (2015). Teneurs en polyphénols ET évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. *International Journal of Innovation and Scientific Research* .ISSN 2351-8014 Vol. 17 No. 1 Aug., pp: 24-33
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372-379. 2008.
- Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernandez-Gutierrez, A. (2007). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(4), 1220-1234.
- Gómez-Caravaca, A., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 1220-1234.
- González-Trujano, M. E., et al. (2011). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 631-636.
- González-Trujano, M. E., et al. (2011). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 631-636.
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Ghembaza, N., & Boukef, K. (2016). Antimicrobial and hemolytic activities of phenolic extracts from Algerian medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(6), 482-488. doi:10.1016/j.apjtb.2016.03.002
- Harach, T., et al. (2017). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice on a high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 108(06), 1034-1044.

Références Bibliographie

- Heim, K-E., Tagliaferro, A-R., Bobilya, D-J. Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 13: 572–584. 2002.
- Herrero, M., et al. (2015). Phenolic profile and antioxidant capacity of *Rosmarinus officinalis* L. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(2), 196-202.
- Hou, C. W., et al. (2012). Carnosic acid-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice on a high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 108(06), 1034-1044.
- Kapoor G, Singh H, Parmar VS, et al. Hemolytic assay: a simple bioassay for the detection of bioactive natural products. *Phytotherapy Research*. 2003; 17(5):449-452. doi:10.1002/ptr.1187
- Kumar, P., Singh, R. K., Mani, P., & Singh, R. P. (2007). Antioxidant activity and phenolic content in genotypes of Indian mulberry (*Morus* spp.) - A preliminary study. *Industrial Crops and Products*, 25(3), 277-281. doi:10.1016/j.indcrop.2006.09.007
- Liu Y, Wang Y, Xu M, Yu Q. Hemolytic assay for assessing the hemocompatibility of biomaterials. *Methods in Molecular Biology*. 2019; 2014:165-172. doi:10.1007/978-1-4939-9562-2_13
- Maataoui, B., Hmyene, A., Hilali, S., (2006). Activités antiradicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie [*Opuntia ficus indica*]. *Lebanese science journal* 7, 3-8.
- Mahmoudi, A. (1992). Les noms populaires des plantes en Algérie. Université d'Alger.
- Makhloufi A. (2017). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat d'état en Biologie. Université Aboubaker Belkaid. p :4-100
- Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinohara, A., Nakata, M., (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 47, 1749-1754.
- Mechetoun, A. (2014). Essai de fabrication d'un yaourt naturel aromatisé par sirop de romarin. Mémoire de Master, [Nom de l'Université].
- Mimica-Dukić, N., et al. (2013). Essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Croatia. *Food Chemistry*,

Références Bibliographie

- Nazari Formagio, A., Ramos, D. D., Vieira, M. C., Ramalho, S. R., Silva, M. L. A. D., & Fiorentino, Â. R. (2014). Phenolic compounds from *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steud. and their contribution to the antioxidant capacity of the crude extract. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 69-76. doi:10.1016/j.jksus.2013.05.002
- Ojeil, A., El Darra, N., El Hajj, Y., Mouncef, P.B., Rizk, T.J., Maroun, R.G., (2010). Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château KSARA. *Lebanese science journal* 11, 117-131.
- OMS (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Organisation mondiale de la santé.
- Othman, M. S., et al. (2021). *Rosmarinus officinalis* extract A promising natural product with potential therapeutic applications. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 73(2), 165-179.
- Peng, C. H., et al. (2013). Supercritical fluid extracts of rosemary leaves exhibit potent anti-inflammation and anti-tumor effects. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(4), 784-792.141(3), 2262-2267.
- Perry, N. S., et al. (2018). Carnosic acid-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice on a high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 70(2), 196-202.
- Quezel, P., et Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS.
- Ribéreau-Gayon, P., (1968). Les Composés phénoliques des végétaux : par Pascal RibéreauGayon. Dunod.
- Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Riceevans, C., (1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of biochemistry and biophysics* 322, 339-346.
- Spichiger, R., et al. (2004). Systematics and evolution of tribe Ocimeae Dumort. (Lamiaceae): evidence from phylogenetic analysis of nuclear and chloroplast DNA sequences. *International Journal of Plant Sciences*, 165(4), 663-678.
- Sun B., Ricardo-da-Silva J.M., Spranger I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 4267-4274.

Références Bibliographie

- T. Pressler; C. Bohmova; S. Conway; S. Dumcius; L. Hjelte; N. Høiby; H. Kollberg; B. Tümmler; V. Vavrova (2011). *Chronic Pseudomonas aeruginosa infection definition: EuroCareCF Working Group report.* , 10(supp-S2), -. doi:10.1016/s1569-1993(11)60011-8
- Tenailon, Olivier; Skurnik, David; Picard, Bertrand; Denamur, Erick (2010). *The population genetics of commensal Escherichia coli.*, 8(3), 207–217. Doi : 10.1038/nrmicro2298.
- Versek, W. (2007). The Lamiaceae in the World. In K. R. Hanelt, & E. Institute (Eds.), *Plant Resources of Tropical Africa* (Vol. 11). PROTA Foundation.
- Walid Yeddes, Abdelkader Chalghoum, Wissem Aidi-Wannes, Riadh Ksouri & Moufida Saidani Tounsi (2013): Effect of bioclimatic area and season on phenolics and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves, *Journal of Essential Oil Research*, DOI: 10.1080/10412905.2019.1577305
- Waterman P.G., Mole S. (1994). *Analysis of phenolic plant metabolites*. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications.