



Remerciements

Au début nous remercierons ALLAH de nous avoir aidé pour accomplir notre travail.

*Nous exprimons d'abord les grands remerciements et notre profonde reconnaissance à **Dr.ZERRIOUH.M**, a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants. Nous la remercions pour sa sérieuse et ses efforts Afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter, Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements pour avoir encadré et dirigé ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi aux membres de jury **Dr.BENTABET.N** et **Dr. BENNABI.F**. De nous avoir faites l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.*

Nos sentiments de profonde gratitude vont à nos professeurs qui nous ont enseignés durant tous nos études.

Nos remerciements s'adressant aussi à tous les techniciens de laboratoire de biologie.

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

Dédicace

A mes parents qui nous quitté, que dieu les accueille dans son vaste paradis.

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

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

*A ceux qui m'ont aidé et m'ont donné joie et bonheur
Mes sœurs kawthar et hadjer .
Mon frère abderrahmane*

*A mes cousines et mes cousins que j'adore beaucoup.
A mes oncles et leurs familles.
A mes tantes et leurs familles.
A mon binôme hayat
A toute la promo Biochimie.*

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

Iman

Dédicace

A l'aide de Dieu tout puissant, de m'avoir donnée la force et la patience, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

*Pour toi **ma chère maman**, qui a toujours montré affection et compréhension à mon égard, je suis à jamais reconnaissante pour tes multiples encouragements, tu as été présente à mes côtés tout au long de mes études. Pour toi **mon père**, aucun dédicace ne saurait exprimer mon respect et ma fierté, ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation, avenir et formation. Je prie dieu tout puissant vous prêter une longue vie et bonne santé.*

*Et À celui qui m'as soutenu tout au long de mon parcours scolaire et universitaire : mon oncle **Merouane**. Sans oublier mon petit frère **Mohamed Miloud** à qui je souhaite un avenir radieux et plein de réussite. Et toute la famille Ce travail est le fruit de vous Prière.*

*À mon encadreur **Dr.ZERRIOUH**. Veuillez bien madame recevoir mes profond gratitude pour le grand honneur que vous m'avez fait d'accepter l'encadrement de ce travail. Votre encadrement a toujours suscité mon profond respect. Et enfin, tous mes sentiments de respect. D'amour. Pour mes amis qui ont joué un grand rôle dans la réalisation de ce travail par m'encourager et d'être ma pour moi. Je les dédie toute sans exception ma mémoire de fin d'étude, notamment mon binôme **Iman**.*

Hayat

Résumé

L'étude présente porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L, une espèce aromatique médicinale appartenant à la famille des *lamiacées*.

La méthode de la réduction du radical DPPH• indique que l'huile essentielle de *R. officinalis* a une lente activité antioxydante comparée par rapport à l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique. En outre, l'activité anti-inflammatoire étudiée en utilisant la méthode de la stabilisation membranaire des érythrocytes, a montré une propriété anti-inflammatoire intéressante de notre huile essentielle, semblable à celle de l'acide salicylique.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Summary:

The present study concerns the evaluation of the *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L, a medicinal aromatic species belonging to the family *Lamiaceae*.

The method for the reduction of the radical DPPH• indicates that the essential oil of *R. officinalis* has a slow antioxidant activity compared to the reference antioxidant, ascorbic acid. In addition, the anti-inflammatory activity studied using the method of membrane stabilization of erythrocytes, showed an interesting anti-inflammatory property of our essential oil, similar to that of salicylic acid.

Keywords : *Rosmarinus officinalis*, essential oil, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

الملخص :

Rosmarinus officinalis تتعلق هذه الدراسة بتقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر والنشاط المضاد للالتهابات في زيت عطري *Lamiaceae* ، وهو نوع عطري طبي ينتمي إلى عائلة *Rosmarinus officinalis* L.

له نشاط بطيء مضاد للأكسدة مقارنةً *R. officinalis* الجذري إلى أن الزيت العطري لـ DPPH تشير طريقة تقليل بمضاد الأكسدة المرجعي ، حمض الأسكوربيك. بالإضافة إلى ذلك ، فإن النشاط المضاد للالتهابات الذي تمت دراسته باستخدام طريقة تثبيط الأغشية في كريات الدم الحمراء ، أظهر خاصية مثيرة للاهتمام مضادة للالتهابات في زيتنا الأساسي ، على غرار حمض الساليسيليك.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis* , زيت أساسي ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات .

Liste des tableaux

Tableau n°1 :	Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>R.off</i>	14
Tableau n°2 :	Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique	15
Tableau n°3 :	Mode opératoire de stabilisation membranaire par chaleur ...	16
Tableau n°4 :	Mode opératoire de test de l'hémolyse	17
Tableau n°5 :	Effet de l'huile essentielle de <i>R.officinalis</i> contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induit dans la chaleur et dans la solution hypotonique	20

Liste des figures

Figure n °1	Origine des espèces réactives de l'oxygène	2
Figure n °2	Mécanisme d'action de quelques antioxydants	4
Figure n °3	<i>Rosmarinus .offisinalis L</i>	8
Figure n °4	Principaux constituants chimiques de l'huile essentielle <i>R.offincinalis</i>	9
Figure n °5	Dispositif d'hydrodistillation	12
Figure n °6	Piégeage de DPPH par l'acide ascorbique	19
Figure n °7	Piégeage de DPPH par l'huile essentielle de <i>R.offincinalis</i>	19

Liste des abréviations

% :	Pourcentage
µg :	microgramme
A :	Absorbance
AFNOR :	Association Française de Normalisation
CAT :	Catalase
COX :	Cyclo-oxygénases
DPPH :	2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
g :	Gramme
GR :	récepteurs des glucocorticoïdes.
IC 50 :	concentration d'inhibition de 50%
Ils :	Interleukines
Mg :	Milligramme
Min :	Minutes
SOD :	Superoxide dismutase
TNF:	Tumor necrosis factor.
Mg:	Microgramme
µl:	Microlitre

SOMMAIRE

RESUME

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION 1

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : Stress oxydatif et l'activité antioxydante

1. Définition du stress oxydative	2
1.1.Origine des espèce réactivés à l'oxygène	2
2. Les antioxydants	3
2.1.Mécanisme d'action des antioxydants	3

CHAPITRE II : Activité anti-inflammatoire

1. Définition de l'inflammation	5
2. Les types de l'inflammation	5
2.1.L'inflammation aiguë	5
2.2. L'inflammation chronique	6
3. Mécanisme d'action de l'inflammation	6
4. Les inflammatoires	7
4.1.Les anti-inflammatoires non stéroïdiens	7
4.2.Les anti-inflammatoires stéroïdiens	7
4.3.Les anti-inflammatoires naturels	7

CHAPITRE III : *Rosmarinus officinalis*

1. Description botanique	8
1.1.Systématique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	8
2. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>R.officinalis</i>	8
3. Les activités biologiques de l'huile essentielle de <i>R.officinalis</i>	9

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

1. Extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	11
1.1.Matériel végétal	11
1.2.Extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> par	

hydrodistillation.....	11
2. Détermination des indices physico-chimiques de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	12
2.1. La densité relative à 20°C.....	12
2.2. L'indice de réfraction.....	13
3. Etude de l'évaluation biologique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	14
3.1. L'évaluation de l'activité antioxydante.....	15
3.2. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire	15
CHAPITRE II : Résultats et discussion	
1. Huile essentielle de <i>R.officinalis</i>	18
1.1. Le rendement en huile essentielle.....	18
1.2. Les indices physico-chimiques de l'huile essentielle	18
➤ Les propriétés organoleptiques	18
➤ La densité	18
➤ L'indice de réfraction	18
2. Les activités biologiques de <i>R. officinalis</i>	19
2.1. L'activité antioxydante.....	19
2.2. L'activité anti-inflammatoire	20
CONCLUSION	22
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	23

Introduction

Depuis les temps les plus anciens, les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, romaine, etc.) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques et diététiques.

Actuellement, cette médication, par les plantes, connaît un regain d'intérêt notable, et, c'est grâce aux études scientifiques basées sur les méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde médical découvre de plus en plus, le bien fondé des prescriptions empiriques des plantes médicinales (**Lahsissene et al., 2009**).

Les plantes sont la source principale de substances actives où au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde. L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (**Mouas et al., 2017**).

Rosmarinus officinalis L., connue sous le nom du romarin, est une plante aromatique, médicinale et condiment appartenant à la famille des *Labiatae*. Elle est largement répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle. *R. officinalis* est sélectionnée parce qu'elle présente un intérêt en tant que conservateur en raison de ses propriétés antioxydantes (**Boutekdjiret et al., 2003**), antimicrobiennes (**Gitaariet al., 2019**) anti-inflammatoires et anti-nociceptives (**Takaki et al., 2008**).

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

- L'extraction de l'huile essentielle de *R.officinalis*.
- L'évaluation *in-vitro* de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de cette huile essentielle.

CHAPITRE I : Stress oxydatif et l'activité antioxydante

1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes (Migdal et Serres, 2011), ce phénomène est lié, soit à une production accrue d'ERO, soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante. La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante et l'inflammation chronique (Defraigne et Pincemail, 2008) ainsi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des ERO dans notre organisme (Haleng et al., 2007).

Le stress oxydatif est lié à plusieurs maladies notamment, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'athérosclérose, le cancer, le syndrome de Down et la lésion ischémique de reperfusion dans différents tissus, notamment le cœur, le foie, le cerveau, les reins et le tractus gastro-intestinal (Govindarajan et al., 2005).

1.1. Origine des espèces réactives à l'oxygène

Lors du métabolisme normal, la réduction tétravalente de l'oxygène en eau (Figure n°1) donne naissance à des intermédiaires potentiellement réduits, appelés « radicaux primaires » ou « espèces réactives à l'oxygène (ERO) », ces entités moléculaires sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance (Migdal et Serres, 2011). Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production d'anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$) se produit et peut s'amplifier lorsque la respiration devient plus intense (effort physique, hyperoxie), ou lorsqu'interviennent des désordres nutritionnels (carence en ubiquinone), qui augmentent avec l'âge. L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées (Favier, 2003).

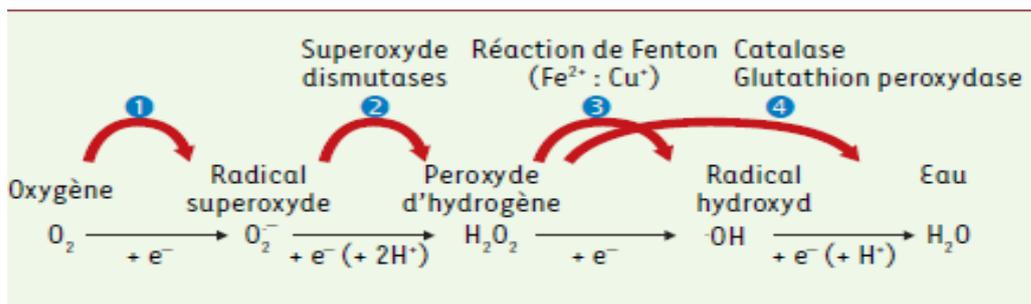


Figure n°1 : origine des espèces réactives à l'oxygène (Migdal et Serres, 2011).

2. Les antioxydants

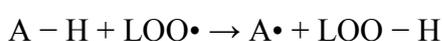
Ce sont des agents protecteurs capables de stabiliser ou de désactiver les radicaux libres avant qu'ils n'attaquent les cellules et permettent de maintenir au niveau cellulaire des concentrations non cytotoxiques de ces radicaux libres (**Favier, 2003**).

À l'heure actuelle, des antioxydants synthétiques sont disponibles, tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT), mais ils se sont révélés toxiques pour l'homme (**Lakshmi et al., 2014**). Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Certains composés antioxydants naturels comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables (**Favier, 2003**) et ils peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Svoboda et Hampson, 1999**).

2.1. Mécanismes d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent agir contre l'oxydation de deux manières distinctes (**figure n°2**) ; soit en protégeant les lipides cibles des initiateurs de l'oxydation (des antioxydants retardeurs), soit en cassant la phase de propagation (des antioxydants briseurs).

- ◆ Des antioxydants retardeurs : ce sont des composés qui réduisent le taux de peroxydation en piégeant les radicaux impliqués dans la phase d'initiation de l'oxydation, ce qui se traduit par un ralentissement plus ou moins continu du processus oxydatif (**Laguerre et al., 2007**) . On prend deux exemples de ces antioxydants le premier est le superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse la réaction de dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène. Le deuxième est la catalase, a également comme substrat le peroxyde d'hydrogène qu'elle réduit en eau et en oxygène moléculaire (**Laguerre et al., 2007**).
- ◆ Des antioxydants briseurs : cette catégorie d'antioxydants va le plus souvent céder un radical hydrogène ($H\bullet$) aux lipoperoxyradicaux propagateurs ($LOO\bullet$), rompant ainsi la réaction de propagation radicalaire de l'oxydation.



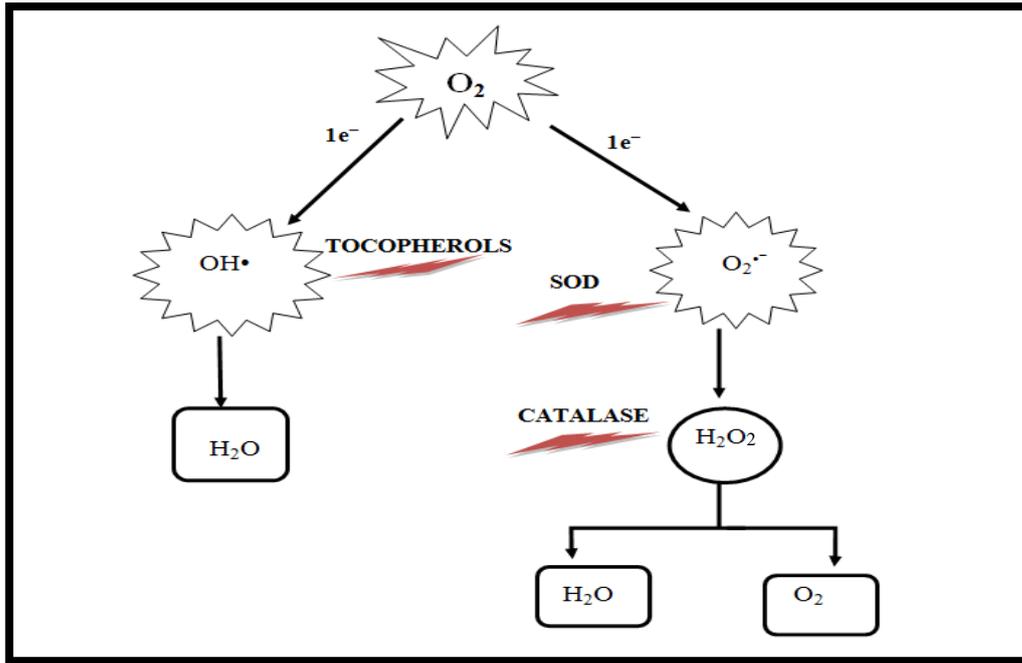


Figure n° 2: mécanisme d'action de quelques antioxydants (Laguerre et al., 2007).

CHAPITRE II : Activité anti-inflammatoire

1. Définition de l'inflammation

L'inflammation est la réponse du système de défense immunologique aux infections microbiennes et virales, brûlures, allergènes et autres stimuli, elle est caractérisée par une perte de fonction avec de la douleur, de la chaleur, des rougeurs et un gonflement (**Taofiq, et al., 2016**). L'objectif principal de l'inflammation est de détruire l'agent nocif et / ou de minimiser ses effets néfastes en limitant sa propagation (**Foe et al., 2016**).

L'inflammation engage une série complexe de cascade de réactions comprenant l'activation d'enzymes, la libération de médiateurs chimiques, l'épanchement de fluides, la migration cellulaire, les lésions tissulaires et leur réparation , ce qui cause de nombreuses maladies, notamment le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires et autres mettant la vie en danger (**Thanh et al., 2017**).

2. Les types de l'inflammation

L'inflammation est classée en deux catégories selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires :

2.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, pouvant survenir dans les premières heures suivant la lésion, puis diminue graduellement à moins que l'agent incriminé ne puisse être éliminée par phagocytose (**Serhan et al., 2010**), elle se divise en trois grandes phases ; une phase vasculaire immédiate ; une phase cellulaire consécutive et une phase de résolution et de cicatrisation (**Serhan et al., 2010; Weill et Batteux, 2003**) :

- **Phase vasculaire** : immédiate, de l'ordre de la minute, caractérisée par la modification de la microcirculation locale.
- **Une phase cellulaire** : consécutive à la mobilisation cellulaire va permettre l'élimination de micro-organismes pathogènes et des tissus lésés.
- **Une phase de résolution et de cicatrisation** : qui, en quelques jours, verra la restauration de tissus (**Weill et Batteux, 2003**).

Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Serhan et al., 2010**).

2.2.L'inflammation chronique

Morphologiquement, l'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, de macrophages, et de plasmocytes dans les tissus, la réponse inflammatoire chronique peut persister pendant de longues périodes (plusieurs mois ou années). Il est prouvé que les macrophages dans ces lésions produisent une série de médiateurs pro-inflammatoires qui activent les fibroblastes pour fixer le collagène et activer les autres macrophages et lymphocytes pour libérer des médiateurs responsables des réponses inflammatoires (**Serhan et al., 2010**).

3. Mécanisme d'action de l'inflammation

L'inflammation est un moyen de défense naturelle des organismes supérieurs contre toute agression extérieure (infection, blessure, agression mécanique, etc) (**Yougbaré-Ziébro et al., 2016**).

La réponse immunitaire innée ainsi que la réponse immunitaire adaptative sont impliquées dans la formation de l'inflammation. Le système immunitaire inné est le principal mécanisme de défense contre les micro-organismes envahisseurs et les cellules cancéreuses, impliquant l'activité de diverses cellules, notamment les macrophages, les mastocytes et les cellules dendritiques. Les systèmes immunitaires adaptatifs impliquent l'activité de cellules plus spécialisées, telles que les cellules B et T, responsables de l'éradication des agents pathogènes envahissants et des cellules cancéreuses en produisant des récepteurs et des anticorps spécifiques (**Azab et al., 2016**). La réponse inflammatoire implique de nombreux enzymes parmi lesquels les lipoxgénases et les cyclooxygénases (COX 1 et COX 2) qui synthétisent des médiateurs pro-inflammatoires tels que les leucotriènes et les prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (**Yougbaré-Ziébro et al., 2016**).

Les macrophages jouent un rôle important dans les mécanismes de défense de l'hôte et l'inflammation. Les macrophages activés sécrètent un certain nombre de médiateurs inflammatoires différents, notamment NO, TNF α , IL1 β et IL-6. La surproduction de ces médiateurs a été impliquée dans plusieurs maladies inflammatoires et le cancer. Ainsi, l'inhibition de l'activation de ces cellules semble être une cible importante pour le traitement des maladies inflammatoire (**Moro et al., 2012**).

4. Les anti-inflammatoires

4.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments aux propriétés antalgiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. En effet, les AINS agissent tous en diminuant la synthèse des prostaglandines E2 et inhibant les deux isoformes de la cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2). L'aspirine est un exemple qui est unique à cet égard car elle se lie de façon covalente et irréversible à l'enzyme COX responsable de l'agrégation plaquettaire et son action dure toute la vie utile de la plaquette (8 à 12 jours), mais présente des risques associés à leur utilisation, notamment des saignements importants dans le tractus gastro-intestinal supérieur (**Risser et al., 2009**).

4.2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (Glucocorticoïdes)

Les médicaments anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Les glucocorticoïdes (GC) traversent librement les membranes cellulaires, se fixent sur des récepteurs spécifiques qui appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires (**Rhen et Cidlowski, 2005**). L'effet anti-inflammatoire des glucocorticoïdes s'exerce lorsqu'un tissu est sujet à inflammation. Les glucocorticoïdes peuvent inhiber toutes les étapes de la réaction inflammatoire aussi bien précoces que tardives. Ils contrôlent ainsi les différents stades de l'inflammation : la vasodilatation, l'œdème, la migration des leucocytes, le stress oxydatif, la phagocytose (**Dejean et Richard, 2013**). L'utilisation des médicaments AIS continue en tant qu'agents thérapeutiques mais sont souvent accompagnés d'effets secondaires cliniquement significatifs (**Rhen et Cidlowski, 2005**).

4.3. Les anti-inflammatoires naturels

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclo-oxygénase et la lipoxygénase (**Han et al., 2007**), et de supprimer les différents types de médiateurs inflammatoires impliqués dans le processus inflammatoire (**Vikrant et Arya, 2011**).

Chapitre 3 : *Rosmarinus officinalis* L.

1. Description botanique

Rosmarinus officinalis L., connue sous le nom du romarin ou *Iklil el djebel* en arabe, est une plante aromatique médicinale, qui appartient à la famille des *Labiatae*, elle est originaire de la région méditerranéenne et largement répandue en Algérie (Oliveira et al., 2019).

R. officinalis L., (figure n°3), est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très rameux, très feuillé (feuilles, vertes et chagrinées en dessus, blanches-tomenteuses en dessous) ; fleurs d'un bleu pâle ou blanchâtre (rapprochées en petites grappes axillaires et terminales), (Botanica, 2008).

Systématique de *Rosmarinus officinalis* (DAMERDJI et LADJMI, 2014)

Règne : végétal.

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Eudicots

Ordre : Lamiales

Famille : Labiées

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *R.officinalis*

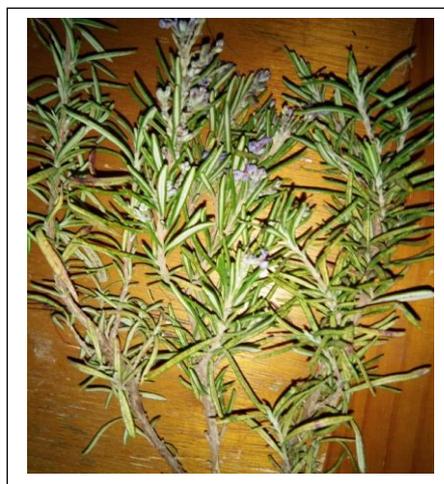


Figure n°3 : *Rosmarinus officinalis* L.
(Photo originale)

2. Composition chimique de l'huile essentielle de *R.officinalis*

La composition chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis* est bien étudiée, les structures des principaux métabolites secondaires isolés et identifiés sont montrées dans la figure n°4.

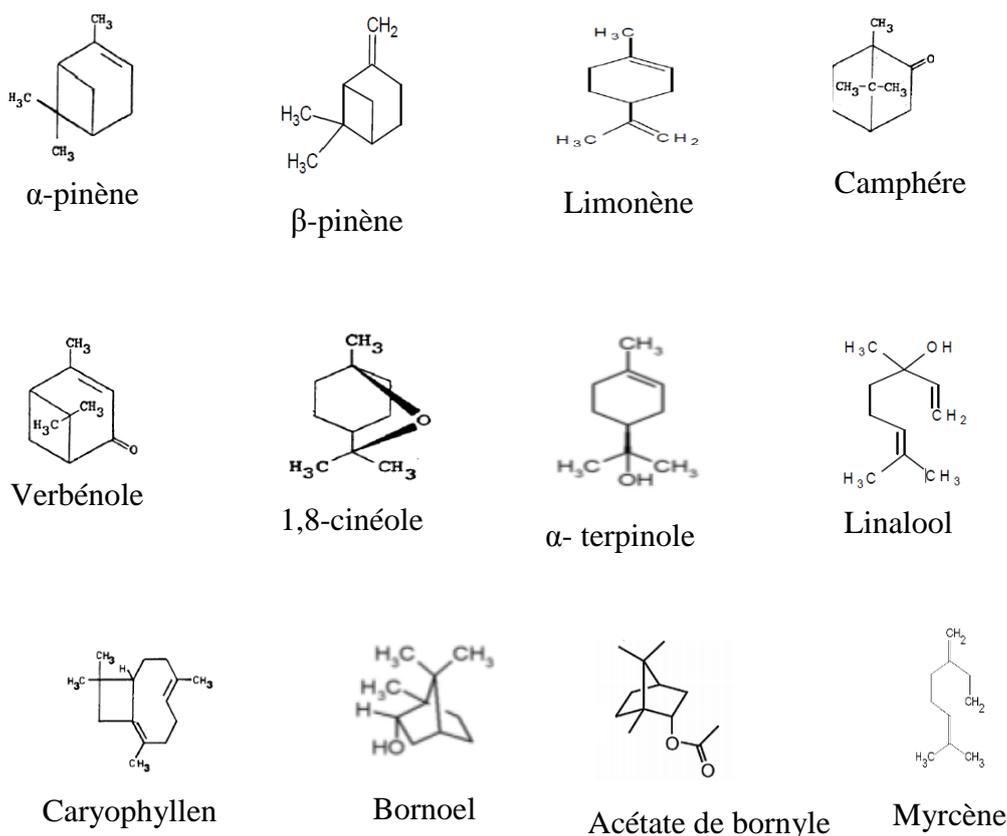


Figure n°5 : Principaux constituants chimiques de l'huile essentielle de *R. officinalis* L.
(Elhaddad, 2014; Mekonnen et al., 2016; Selmi et al., 2017)

3. Les activités biologiques de l'huile essentielle de *R. officinalis*

En médecine traditionnelle, l'huile essentielle de *R. officinalis* est utilisée dans le traitement de la dyspepsie et des formes bénignes de troubles gastro-intestinaux spasmodiques et des anomalies circulatoires, en complément du traitement de douleurs musculaires ou articulaires et des inflammations, de plus les parties aériennes de la plante sont été utilisées comme teinture ou thé pour le traitement des troubles gastriques, maladies liées à la douleur et à l'inflammation (Borges et al., 2018).

L'huile essentielle *R. officinalis* est riche en métabolites secondaires avec des propriétés thérapeutiques intéressantes, elle est connue pour ses propriétés antioxydantes (Wang et al., 2008) et anti-inflammatoires (Borges et al., 2018) qui sont dues à ses composés le 1,8-cinéole, l' α -pinène et le camphre (Borges et al., 2018; Rufino et al., 2015). Quant à l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (Gitaari et al., 2019), elle a été reliée à des chemotypes riches en α -pinène (50,8% d' α -pinène) (Mekonnen et al., 2016).

Synthèse bibliographique

D'autres études ont aussi montré que l'huile essentielle de *R. officinalis* est douée d'activité anti-ulcérogène (**Dias et al., 2000**) ; antinociceptive (**Takaki et al., 2008**), diurétique (**Haloui et al., 2000**) et anti tumorigénique (**Al-Sereiti et al., 1999**).

1. Extraction de l'huile essentielle

1.1. Matériel végétal

Rosmarinus officinalis L., a été collectée en Mars 2019 dans la région d'Ain larba'a wilaya d'Ain Témouchent, et a été identifiée par M^r Amara Mohamed (Maître de conférences au CUBBAT). La partie aérienne de la plante a été séchée à l'ombre et à l'abri de l'humidité pour être utilisée par la suite pour son huile essentielle.

1.2. Extraction de l'huile essentielle de *R. officinalis* par hydrodistillation

◆ Principe

Hydrodistillation consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange de plantes et d'eau, la chaleur provoque l'éclatement des cellules végétales, qui libèrent leur contenu en molécules odorantes. C'est molécules sont ainsi entraînées par la vapeur d'eau, et en passant par un réfrigérant à eau froide, elles se condensent et peuvent être récupérées dans un récipient (**Bruneton, 1999**).

◆ Mode opératoire

Dans la **figure n°1**, est illustré le schéma de l'appareillage utilisé pour l'obtention de l'huile essentielle de *R. officinalis*, par hydrodistillation, les étapes suivies sont :

- 100 g de la partie aérienne de la plante sont introduits dans un ballon de 2L, et additionnés de l'eau distillée jusqu'au deux tiers de la capacité du ballon.
- Le mélange ainsi préparé est porté à ébullition pendant 3 heures.
- Les molécules volatiles libérées sont refroidies, condensées puis récupérées dans une ampoule à décanter, dans laquelle deux phases se forment, la phase supérieure organique (contient l'huile essentielle) et une phase aqueuse.
- L'huile essentielle récupérée est conservée dans des tubes en verre fumé à l'abri de la lumière et à une température entre 0 et 4 °C.
- Le rendement d'extraction exprimé en pourcentage de matière sèche est calculé par la formule suivante :

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

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

P_x : poids de l'huile en g.

P_y : poids de la plante en g.

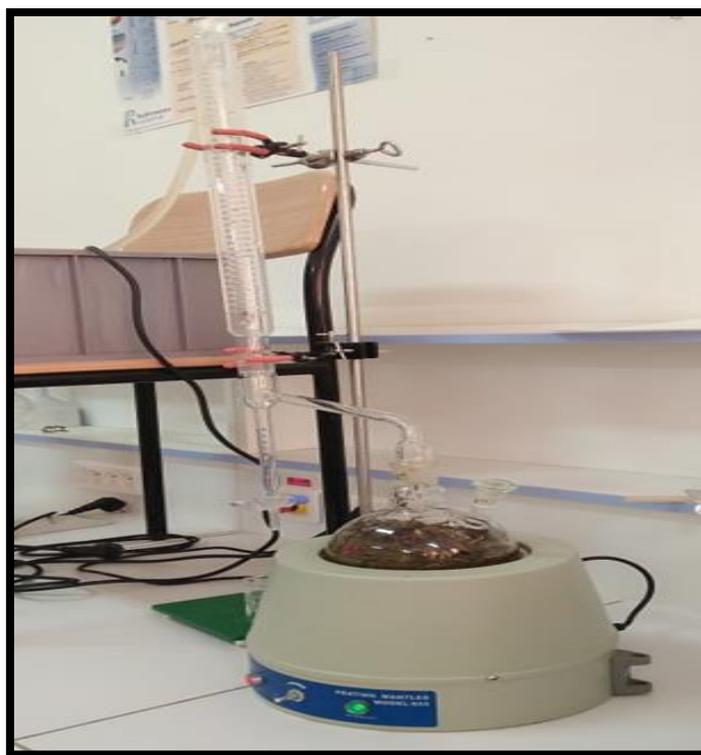


Figure n°1 : Dispositif utilisé pour l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de *R. officinalis*.

2. Détermination des indices physicochimiques de l'huile essentielle de *R. officinalis*.

2.1. La densité relative à 20 °C

◆ Principe

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

◆ Mode opératoire

La détermination de la densité s'effectue par pesée dans une balance de précision, d'un même volume de l'huile et de l'eau distillée, les masses suivantes sont obtenues :

- m_1 : masse de l'huile.
- m_2 : masse de l'eau distillée.
- Densité = m_1 / m_2 .

2.2. L'indice de réfraction

◆ Principe

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

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

N : indice de réfraction du milieu le plus dense.

n : indice de réfraction du milieu le moins dense.

◆ Mode opératoire

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

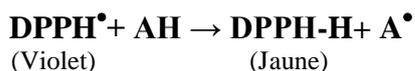
- Quelques gouttes d'eau distillée sont appliquées sur le prisme à l'aide d'une pipette, à la stabilisation de la température, le zéro de l'appareil est réglé ainsi à 1,3330nD.
- Dans un deuxième temps, une petite quantité d'échantillon de l'huile est appliquée sur le prisme à l'aide d'une pipette, l'indice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

3. Etude de l'activité biologique de l'huile essentielle *R. officinalis*

3.1. L'évaluation de l'activité antioxydante

◆ Principe

La méthode d'évaluation de l'activité antioxydant de l'huile essentielle est basée sur la réduction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•]), par les espèces anti-oxydantes (AH) présentes dans le milieu réactionnel. Cette réduction est exprimée par le changement de la coloration du violet au jaune, dont l'intensité est mesurée à 517nm (**Molyneux, 2004**).



◆ Mode opératoire

Les **tableaux n°1** et **n°2** résument le mode opératoire et les différentes étapes suivies pour la détermination de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique utilisé comme un contrôle positif, nous avons utilisé la méthode décrite par **Molyneux (2004)**.

Matériel et méthodes

- 2ml de l'huile essentielle de *R.officinalis*, et/ou de l'acide ascorbique préparés à différentes concentrations, sont additionnés de 2ml de solution éthanolique de DPPH à 2.5%.
- Le mélange est bien agité, et laissé incuber à température ambiante pendant 30min pour l'acide ascorbique et 120min pour l'huile essentielle.

La lecture de l'absorbance est réalisée à 517nm, dans un spectrophotomètre UV/Vis 6715 UV/Vis spectrophotometer JENWAY.

Tableau n°1 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *R.officinalis*.

Concentration de l'huile essentielle (µg/ml)	500	1000	1500	2000	2500	3000	3500	4000	4500	5000
Volume de l'huile essentielle (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Volume du DPPH 2,5% (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Incubation pendant 120min										
Lecture de la DO 517nm										

Tableau n°2 : Mode opératoire de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique.

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

- L'activité antioxydante est estimée selon l'équation (**Molyneux, 2004**):

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

(Abs: absorbance)

- La concentration qui provoque la réduction de 50% du DPPH, appelée concentration Inhibitrice à 50% (**IC₅₀**), est calculée graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'huile essentielle (**Molyneux, 2004**).

3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *R. officinalis*

◆ Principe

Activité anti-inflammatoire d'une huile peut être étudiée in vitro par l'utilisation des membranes des érythrocytes qui représentent des similitudes avec d'autres membranescellulaires notamment des lysosomes et nous indiquent ainsi sur leur stabilisation en présence d'agent hémolytique (**Shobana et Vidhya, 2016**). Dans notre étude, nous avons utilisé deux tests, un test de stabilité par la chaleur et un test d'hémolyse, en se basant sur la méthode suivie par Shinde et ces collaborateurs (**Shinde et al., 1999**).

◆ Mode opératoire

A. Préparation de la suspension érythrocytaire

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

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

B. Test de stabilisation membranaire par la chaleur

Le **tableau n°3**, résume les différentes étapes utilisées dans le test de stabilisation membranaire par la chaleur. Deux séries de tubes ont été utilisés pour ce test, une est incubée à 54°C et l'autre à 0° C, pendant 20min. Chaque tube contient 0.5 ml de l'huile essentielle de *R.officinalis* à 50,100 et 200µg/ml, additionnée d'une solution tampon phosphate (pH=7.4), et de 30µl de la suspension érythrocytaire à 40%. Après incubation des tubes et récupération des surnageant, l'absorbance est mesurée à 540nm. En parallèle, l'acide salicylique (500µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif. Un tube contenant de l'éthanol a été utilisé comme un contrôle négatif.

Tableau n°3 : mode opératoire du test de stabilisation membranaire par la chaleur.

Concentrations de l'huile essentielle (µg/ml)	-	50	100	200	-
Concentrations de l'Acide salicylique (µg/ml)	-	-	-	-	500
Volumes (ml)	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Ethanol (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Solution tampon phosphate (pH=7.4)	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
Volume de la suspension érythrocytaire 40% (µl)	30	30	30	30	30
Chaque tube est préparé en deux exemplaires ; un est incubé à 54° dans un bain Marie et l'autre à 0°, pendant 20min.					
Centrifugation 3min à 1300g					
Récupération du surnageant et lecture de l'absorbance à 540nm.					

◆ **Calcul du pourcentage d'inhibition**

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

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

DO1 : Echantillon à 0°C

DO2 : Echantillon à 54°C.

DO1' : Contrôle négative à 0°C.

DO2' : Contrôle négatif à 54°C.

C. Test d'hémolyse

Le **tableau n°4**, résume le mode opératoire utilisé dans le test d'hémolyse. Deux séries de tubes ont été utilisées, une traitée par une solution tampon phosphate isotonique (pH=7.4) et l'autre par une solution tampon hypotonique (pH=7.4). Chaque tube contient 0.5 ml de l'huile essentielle de *R.officinalis* à 50,100 et 200µg/ml, additionnée d'une solution tampon phosphate isotonique ou hypotonique (pH=7.4), et de 30µl de la suspension érythrocytaire à 40%. Après incubation des tubes et récupération des surnageant, l'absorbance est mesurée à 540nm. En parallèle, l'acide salicylique (500µg/ml) a été utilisé comme un contrôle positif. Un tube contenant de l'éthanol a été utilisé comme un contrôle négatif.

Tableau n°4 : mode opératoire du test d'hémolyse

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

D. Calcul du pourcentage d'inhibition

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

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

DO1 : Echantillon traité par la solution hypotonique.

DO2 : Echantillon traité par la solution isotonique.

DO1' : Contrôle négative traité par la solution hypotonique.

DO2' : Contrôle négatif traité par la solution isotonique.

1. Huile essentielle de *R.officinalis*

1.1.Le rendement en huile essentielle

Le rendement de l'huile essentielle est exprimé en pourcentage massique (g/g) par rapport à la matière sèche, pour *R.officinalis* nous l'avons trouvé égal à 0.46% (g/g), qui est différent par rapport à celui trouvé dans d'autres études réalisées sur la même plante , 0,57 % pour la région de Relizane (**Mimouni, 2016**), de 0,72 % pour la région de Mostaganem (**Mimouni, 2016**), 1.17% en Tunisie (**Zaouali et al., 2010**), et 0.54% pour la région de Tafardoust au Maroc (**Derwich et al., 2011**).

Plusieurs facteurs peuvent avoir un impact direct sur les rendements en huiles essentielles ; notamment la zone géographique de collecte, la période et la saison de récolte, l'organe de la plante, le stade de développement, la durée de séchage et la méthode d'extraction (**Mechergui et al., 2010**).

1.2. Les indices physico-chimiques de l'huile essentielle

➤ **Les propriétés organoleptiques**

L'huile essentielle de *R. officinalis*, a un aspect fluide, de couleur jaune vif, et d'une forte odeur, ces propriétés sont bien caractéristiques pour chaque huile, et sont fixées par des normes données par **AFNOR (1992)**, c'est ainsi que les huiles essentielles sont des constituants majeurs dans l'industrie de la cosmétique et de la parfumerie et dans l'aromathérapie.

➤ **La densité**

Chaque huile essentielle a une densité qui la caractérise (**Baser et Buchbauer, 2010**), généralement elle est comprise entre 0.905 et 0.921 (**AFNOR, 1992**), *R. officinallis* a une densité de 0.92.

➤ **L'indice de réfraction**

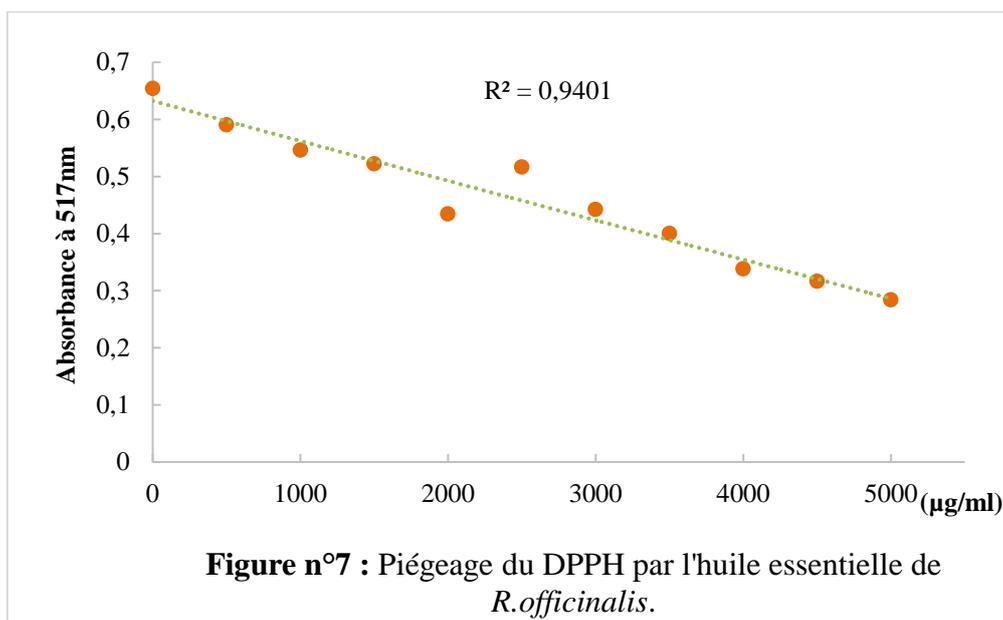
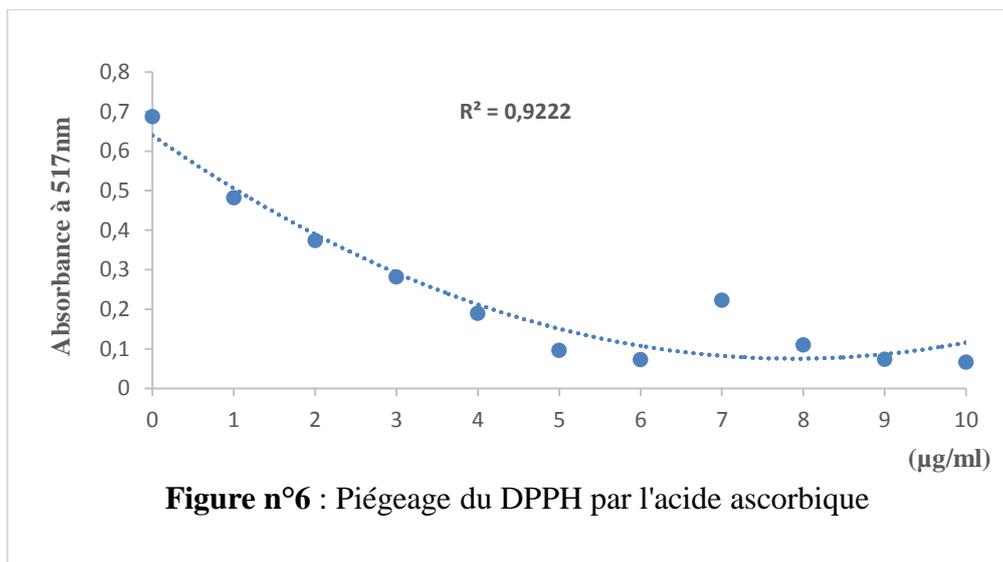
La pureté d'une huile essentielle, peut être déterminée par son indice de réfraction, qui dépend de sa composition chimique, et qui peut être considérablement modifié, en présence de faible quantité d'impuretés (**Bernard et al., 2014**). Les huiles essentielles ont un indice de réfraction compris entre 1.3356-1.3500 (**AFNOR, 1992**), pour notre huile cette valeur est égale à 1.4745. Il a été reporté que l'indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur

en monoterpènes et en dérivés oxygénés, une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé (Boukhatem et al., 2010).

2. Les activités biologiques de *R. officialis*

2.1.L'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *R. officialis* a été testé par la méthode qui utilise le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical libre relativement stable. L'acide ascorbique, a été utilisé comme un antioxydant de référence, et son IC₅₀ a été calculée. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure n°6 et n°7.



Les résultats obtenus, n'ont pas permis de calculer l'IC₅₀ de l'huile essentielle de *R. officinalis*, et ont montré que l'activité antioxydante de notre huile essentielle, atteint un pourcentage d'inhibition de 60%, après 120min, et la réaction n'a pas encore atteint son état stationnaire (point de terminaison). Par contre, l'IC₅₀ de l'acide ascorbique est de 2.34µg/ml, calculé après 30min d'incubation. Il a été montré que la cinétique des réactions de réduction du DPPH, dépend de la nature de l'antioxydant testé, on distingue trois types de comportements, une cinétique rapide, c'est le cas de l'acide ascorbique qui atteint l'état stationnaire en moins d'une minute, une cinétique intermédiaire, comme celle observée avec δ-Tocophérol, qui est de 5 à 30 min, est enfin une cinétique très lente de 1h jusqu'à 6h, comme dans le cas du guaiacol (**Brand-Williams et al., 1995**).

En revanche, des études réalisées sur la même l'huile ont trouvé des IC₅₀ de 710.15±6.15 µg/ml dans la région de Mostaganem, et de 1240.20±16.63µg/ml dans la région de Rélizane (**Mimouni, 2016**), cela peut être expliqué par une composition chimique différente de l'huile essentielle. En fait des plantes botaniquement identiques, peuvent fournir des huiles essentielles de composition plus ou moins différentes, on parle alors de chimiotypes (**Tremblin, 2016**). D'autre part, il a été aussi démontré l'existence d'une synergie entre les différentes molécules antioxydantes, l'absence d'une molécule ou sa présence en faible quantité, peut ainsi influencer la capacité antioxydante de la plante (**Juergens, 2014**).

2.2.L'activité anti-inflammatoire

Dans le **tableau n°5**, sont donnés les résultats de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *R. officinalis*, testé par deux procédés qui provoquent l'hémolyse des globules rouges ; la chaleur et une solution hypotonique.

Tableau °5 : Effet de l'huile essentielle de *R.officinalis*, contre l'hémolyse des membranes érythrocytaires, induite dans la chaleur et dans la solution hypotonique.

	Concentrations (µg/ml)	Inhibition de l'hémolyse (%)	
		Chaleur	Solution hypotonique
<i>R.officinalis</i>	50	22.81± 6.09	53.45 ±4.92
	100	56.13*	55.24*
	200	59.07± 8.61	56.54 ±3.14
Acidesalicylique	500	63.11 ±5.47	51.83± 6.54

*n=1.

L'huile essentielle de *R.officinalis* a protégé les membranes érythrocytaires contre l'hémolyse induite dans la chaleur, avec des pourcentages d'inhibition de 22.81± 6.09%, 56.13 et 59.07± 8.61 % aux concentrations de 50, 100 et de 200µg/ml respectivement, dans les mêmes conditions l'effet de l'acide salicylique était de 63.11 ±5.47%, a une concentration de 500µg/ml.

De même la même huile, a protégé les globules rouges contre l'hémolyse provoquée par la solution tampon hypotonique, avec des pourcentages d'inhibition d'hémolyse de 53.45 ±4.92 %, 55.24% et 56.54 ±3.14aux concentrations de 50, 100 et de 200µg/ml respectivement, alors que l'effet de l'acide salicylique était de 51.83± 6.54%, a une concentration de 500µg/ml.

L'utilisation des érythrocytes comme modèle pour l'étude de l'activité hémolytique, offre plusieurs avantages, notamment que ce sont des cellules exempt d'organelles intracellulaires, et tout effet d'une substance sur l'hémolyse hypotonique pourrait d'une manière justifiable être interprété comme effet sur la membrane elle-même (**Seeman et Weinstein, 1966**).

Plusieurs mécanismes d'action ont été proposés pour expliquer l'effet anti-hémolytique des huiles essentielles, Louerrad et ces collaborateurs (**2016**), ont suggéré que l'huile essentielle équilibre la pression osmotique entre les deux milieux, et se fixe sur l'aquaporine qui empêche l'eau d'entrer à l'hématie. Une autre étude, propose un effet cytoprotecteur sur la membrane des érythrocytes qui pourrait être dû à la capacité de l'huile testée à modifier l'afflux de calcium dans les érythrocytes (**Shinde et al., 1999**).

Conclusion et perspectives

La présente étude avait pour objectif d'extraction d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de leur activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro*. L'huile essentielle de *R.officinalis* a montré une activité antioxydante lente, et une activité anti-inflammatoire intéressante.

Dans les perspectives souhaitées, il serait nécessaire d'utiliser d'autres techniques d'extraction afin d'optimiser le rendement ainsi que la qualité d'huile essentielle. Il est intéressant aussi de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel antioxydant et anti-inflammatoire et même les autres propriétés *in vitro* et *in vivo*.

Etant donné la complexité de la composition chimique de l'huile essentielle, il est intéressant de les caractériser par GC-MS ou d'autres techniques et identifier les composés responsables des différentes activités et les tester séparément.

A

1. Abuja, P. M., & Albertini, R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica chimica acta*, 306(1-2), 117.
2. AFNOR, N. (1992). Recueil des Normes Françaises. Huiles Essentielles. *AFNOR: Paris*.
3. Albert, M., Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'Actualité Chimique*, 11-12
4. Al-Sereiti, M., K. Abu-Amer, et al. (1999). "Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials."
5. Azab, A., Nassar, A., & Azab, A. (2016). Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules*, 21(10), 1321
6. Azab, A., Nassar, A., & Azab, A. (2016). Anti-inflammatory activity of natural products.

B

7. Bajalan, I., R. Rouzbahani, et al. (2017). "Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*." *Industrial crops and products* 107: 305-311.
8. Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9(1), 5-21.
9. Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2010). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton CRC press.
10. Bernard, A. S., Clède, S., Emond, M., Monin-Soyer, H., & Quérard, J. (2014). *Techniques expérimentales en Chimie - 2e éd.: Réussir les TP aux concours*. Paris:: Dunod.
11. Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2018). *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of ethnopharmacology*.
12. Botanica, T. (2008). "Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France (BD NFF)." Ministère de l'Environnement et du Développement Durable, Muséum National d'Histoire Naturelle et l'Institut Français de la Biodiversité. [www. tela-botanica. org](http://www.tela-botanica.org).

- 13.**Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*(9), 14.
- 14.**Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., & Hakim, Y. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargoniumgraveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, (3), 37.
- 15.**Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- 16.**Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. English.

D

- 17.**Damerdji, a.(2014). and I. Iadjmi "contribution a l'étude bio-écologique de la faune de *rosmarinus officinalis* L.(romarin)(labiees) dans la région de tlemcen (no algérien)."
- 18.**de Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & de Oliveira, L. D. (2019). *Rosmarinus officinalis* L.(rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of biomedical science*, 26(1), 5.
- 19.**Defraigne, J.-O., & Pincemail, J. (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
- 20.**Dejean, C., & Richard, D. (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Revue de medecine interne*, 34(5), 264-268.
- 21.**Derwich, E., Benziane, Z., & Chabir, R. (2011). Aromatic and medicinal plants of Morocco: chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Juniperus phoenicea*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(1), 145-153.
- 22.**Dias, P. C., M. A. Foglio, et al. (2000). "Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L." *Journal of ethnopharmacology***69**(1): 57-62.

E

- 23.**ELHADDAD, S. (2014). "Les extrais des plantes médicinales.

F

- 24.**Fahim, F., A. Esmat, et al. (1999). "Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis." *International journal of food sciences and nutrition***50**(6): 413-427.

- 25.**Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
- 26.**Favier, A. (2006). *Stress oxydant et pathologies humaines*. Paper presented at the Annales pharmaceutiques françaises.
- 27.**Foe, F. M.-C. N., Tchingang, T. F. K., Nyegue, A. M., Abdou, J.-P., Yaya, A. J. G., Tchinda, A. T., . . . Etoa, F.-X. (2016). Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 117.

G

- 28.**Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.
- 29.**Gitaari, N., P. Kareru, et al. (2019). "Antimicrobial Potential of *Pelargonium citrosum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils." *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*: 1-5.
- 30.**Govindarajan, R., Vijayakumar, M., & Pushpangadan, P. (2005). Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana'herbs of Ayurveda. *Journal of ethnopharmacology*, 99(2), 165-178.

H

- 31.**Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-638.
- 32.**Haloui, M., L. Louedec, et al. (2000). "Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*." *Journal of ethnopharmacology*71(3): 465-472.
- 33.**Han, T., Li, H.-L., Zhang, Q.-Y., Han, P., Zheng, H.-C., Rahman, K., & Qin, L.-P. (2007). Bioactivity-guided fractionation for anti-inflammatory and analgesic properties and constituents of *Xanthium strumarium* L. *Phytomedicine*, 14(12), 825-829.

J

- 34.**Juergens, U. (2014). Anti-inflammatory properties of the monoterpene 1.8-cineole: current evidence for co-medication in inflammatory airway diseases. *Drug Research*, 64(12), 638-646.

K

- 35.**Kalam, S., Singh, R., Mani, A., Patel, J., Khan, F. N., & Pandey, A. (2012). Antioxidants: elixir of life. *International Multidisciplinary Research Journal*, 2(1).
- 36.**Khia, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Aberchane, M., Quaboul, B., . . . Charrouf, Z. (2014). Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. [journal article]. *Phytothérapie*, 12(6), 341-347. doi: 10.1007/s10298-014-0895-x.

L

- 37.**Laguerre, M., Lopez Giraldo, L. J., Lecomte, J., Pina, M., & Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *OCL. Oléagineux Corps gras Lipides*, 14(5), 278-292.
- 38.**Lahsissene, H., A. Kahouadji, et al. (2009). "Catalogue des plantes medicinales utilisees dans la region de Zaër (Maroc Occidental)." Lejeunia, Revue de Botanique.
- 39.**Lakshmi, G., Smitha, N., Ammu, S., Priya, C., & Bhaskara, R. (2014). Phytochemical profile, in vitro antioxidant and hemolytic activities of various leaf extract of *Nymphaeanouchalilinn*: an in vitro study. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(6), 548-552.

M

- 40.**Mechergui, K., Coelho, J. A., Serra, M. C., Lamine, S. B., Boukhchina, S., & Khouja, M. L. (2010). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10), 1745-1749.
- 41.**Mekonnen, A., B. Yitayew, et al. (2016). "In vitro antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*." International journal of microbiology.
- 42.**Middleton, E. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function *Flavonoids in the living system* (pp. 175-182): Springer.
- 43.**Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- 44.**Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.
- 45.**MIMOUNI, M. (2016). Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions Mostaganem et Relizane.

- 46.** Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- 47.** Moro, C., Palacios, I., Lozano, M., D'Arrigo, M., Guillaumon, E., Villares, A., . . . Garcia-Lafuente, A. (2012). Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from edible mushrooms in LPS activated RAW 264.7 macrophages. *Food chemistry*, 130(2), 350-355.
- 48.** Mouas, Y., F. Z. Benrebiha, et al. (2017). "Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L." *Revue Agrobiologia* 7(1): 363-370.

N

- 49.** Nam, S.-Y., C.-k. Chung, et al. (2014). "The therapeutic efficacy of α -pinene in an experimental mouse model of allergic rhinitis." *International immunopharmacology* 23(1): 273-282.

R

- 50.** Rhen, T., & Cidlowski, J. A. (2005). Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs. *New England Journal of Medicine*, 353(16), 1711-1723.
- 51.** Risser, A., Donovan, D., Heintzman, J., & Page, T. (2009). NSAID prescribing precautions. *American family physician*, 80(12), 1371-1378.
- 52.** Rufino, A. T., M. Ribeiro, et al. (2015). "Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis." *European journal of pharmacology* 750: 141-150.

S

- 53.*** Shobana, S., & Vidhya, R. (2016). Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of *Abutilon indicum* (linn.). *World J Pharm Pharm Sci*, 5, 1182-1196.
- 54.** Seeman, P., & Weinstein, J. (1966). I. Erythrocyte membrane stabilization by tranquilizers and antihistamines. *Biochemical Pharmacology*, 15(11), 1737-1752.
- 55.** Selmi, S., K. Rtibi, et al. (2017). "Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil components exhibit anti-hyperglycemic, anti-hyperlipidemic and antioxidant effects in experimental diabetes." *Pathophysiology* 24(4): 297-303.
- 56.** Serhan, C. N., Ward, P. A., & Gilroy, D. W. (2010). *Fundamentals of inflammation*: Cambridge University Press.

- 57.**Shinde, U., Phadke, A., Nair, A., Mungantiwar, A., Dikshit, V., & Saraf, M. (1999). Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, 70(3), 251-257.
- 58.**Silva-Filho, S. E., F. M. de Souza Silva-Comar, et al. (2014). "Effect of camphor on the behavior of leukocytes in vitro and in vivo in acute inflammatory response." Tropical Journal of Pharmaceutical Research**13**(12): 2031-2037.
- 59.**Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes rendus biologiques*, 327(7), 649-662.
- 60.**Svoboda, K. P., & Hampson, J. B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW*, 16, 1-7.

T

- 61.**Takaki, I., L. Bersani-Amado, et al. (2008). "Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models." Journal of medicinal food**11**(4): 741-746.
- 62.**Takayama, C., F. M. de-Faria, et al. (2016). "Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat." Asian Pacific journal of tropical biomedicine**6**(8): 677-681.
- 63.**Taofiq, O., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2016). Anti-inflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 193-210.
- 64.**Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 669-675.
- 65.**Thanh, T. B., Duc, L. V., Thanh, H. N., & Tien, V. N. (2017). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of isolated compounds of ethanol extract from *Sanchezia speciosa* Leonard's leaves. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 28(1), 79-84.
- 66.**Tremblin, M. (2016). *Abrégé de biochimie appliquée - 2e édition*. France EDP Sciences.

V

67. Vikrant, A., & Arya, M. (2011). A review on anti-inflammatory plant barks. *International Journal of PharmTech Research*, 3(2), 899-908.

W

68. wang, w., n. wu, et al. (2008). "antioxidative activity of rosmarinus officinalis l. essential oil compared to its main components." *food chemistry***108**(3): 1019-1022.

69. Weill, B., & Batteux, F. (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires*: De Boeck Supérieur.

Y

70. Yougbaré-Ziébro, M., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C., . . . Guissou, I. (2016). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, 14(4), 213-219.

Z

71. Zaouali, Y., Bouzaine, T., & Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3144-3152.