

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République algérienne démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب

Université –Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib Faculté des Sciences et de Technologie



Département Biologie

Projet de fin d'Etudes

Pour l'obtention du diplôme de Master en

Biologie Domaine : Sciences de la Nature et de
la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

***Etude des activités biologiques des extraits naturels d'une plante
médicinale***

Rosmarinus officinalis L. de la région d'Ain Temouchent

Présenté par:

- 1) Melle. MASSABIHI Hanane
- 2) Melle. MANSOUR HAFIFI Oumaima Fatima

Le: 29 juin 2026

Devant le jury composé de:

Dr. YAZIT.M	MCA	UAT.B.B (Ain-Temouchent)	Président
Dr. TAHARI.F	MCA	UAT.B.B (Ain-Temouchent)	Examinatrice
Dr. Farid BENNABI	MCA	UAT.B.B (Ain-Temouchent)	Encadrant

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons tout d'abord à remercier **Allah le Tout-Puissant** pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadrant **Pr. Farid Bennabi** pour son accompagnement, ses conseils, sa disponibilité et son soutien tout au long de ce travail. Ses orientations et ses remarques scientifiques ont grandement contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à **M. Yazit**, président du jury, ainsi qu'à **Mme Fatima Tahari**, examinatrice, pour l'intérêt porté à notre travail, leurs observations pertinentes et le temps consacré à l'évaluation de ce mémoire.

Nos remerciements vont également à **Dr. Nadjib Cherif**, chef de département, pour son soutien et ses efforts au sein du département.

Nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants, du personnel administratif et technique de la faculté pour leur accompagnement, leur disponibilité et les conditions favorables offertes durant notre parcours universitaire.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Qu'Allah vous accorde santé, réussite et prospérité.

Dédicace

Au nom d'**Allah**, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux,
Je rends grâce à **Allah** pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance
nécessaires pour accomplir ce travail.

Je dédie ce mémoire à mes chers parents, qui ont été ma source d'amour, de soutien et
d'inspiration.

À ma tendre mère, **Boussada Rachida**,
pour son amour inconditionnel, ses prières, ses sacrifices et sa présence qui m'a toujours
donné le courage d'avancer. Que Dieu la protège et lui accorde une longue vie pleine de
bonheur.

À mon cher père, **Messabihi Lakhder**,
pour ses conseils précieux, ses encouragements et tous les efforts qu'il a consacrés pour me
voir réussir. Son soutien restera gravé dans mon cœur.

À ma chère sœur, **Messabihi Nadjjet**,
pour son affection, sa gentillesse et tous les moments de partage qui ont rendu mon parcours
plus beau.

À toute ma famille et à tous ceux qui m'ont accompagné de près ou de loin,
je vous adresse ma profonde gratitude et mes sincères remerciements.

Que ce travail soit le reflet de votre amour, de vos sacrifices et de votre confiance en moi.

Hanane

Dédicace

Tout d'abord, je remercie Allah, le Tout-Puissant, de m'avoir accordé la santé, la force et la persévérance nécessaires pour réaliser ce travail.

Je dédie ce travail :

À ma chère mère **Kebdani Fafette**,
mon premier refuge et ma plus grande source d'amour. Merci pour tes prières, tes sacrifices, ta patience et ton soutien qui m'ont toujours donné la force de continuer. Que Dieu te protège et te garde près de moi.

À mon cher père **Mansoure Hafifi Reda**,
pour son amour, ses encouragements et tous les efforts qu'il a consacrés à mon épanouissement et à ma réussite. Ta présence a toujours été une force pour moi.

À mes chères sœurs **Mansoure Hafifi Roumaïssa** et **Mansoure Hafifi Aïcha**,
pour leur affection, leur soutien et les moments précieux partagés ensemble.

À ma chère grand-mère **Bel Aidouni Fatna**,
pour sa tendresse, ses prières et son amour qui occupent une place spéciale dans mon cœur.

À mon binôme **Hanane Messabihi**,
pour sa collaboration, sa patience et les efforts que nous avons partagés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

À toutes les personnes qui m'ont soutenu, encouragé et accompagné durant ce parcours,
je vous adresse toute ma gratitude et mes sincères remerciements.

Oumaima

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations.....	
Introduction Générale.....	1

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1 : Présentation botanique, écologique et ethnopharmacologique de Rosmarinus officinalis

1.1. Systématique et morphologie.....	3
1.1.1. Position systématique	3
1.1.2. Description morphologique	5
1.2. Aire de répartition et écologie.....	7
1.2.1. Répartition géographique	8
1.2.2. Écologie et conditions de croissance.....	9
1.3. Usages traditionnels (cuisine, médecine populaire, cosmétique).....	9
1.4. Composition chimique globale du romarin.....	10

Chapitre 2 : Les huiles essentielles et extraits végétaux

2.1. Définition et classification des huiles essentielles	12
2.1.1. Définition	12
2.1.2. Classification selon l'origine botanique.....	13
2.1.3. Classification selon la composition chimique	13
2.1.4. Classification selon les chimiotypes.....	14
2.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	15
2.2.1. Hydrodistillation.....	16
2.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	17
2.2.3. Extraction par solvants organiques.....	17
2.2.4. Extraction au CO ₂ supercritique	18
2.3. Principaux constituants des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis	18

Chapitre 3 : Activités biologiques recherchées

3.1. Activité antibactérienne	21
3.1.1. Mécanismes d'action antibactériens	21
3.1.2. Tests in vitro d'évaluation.....	22
3.2. Activité antifongique	23
3.2.1. Spectre antifongique.....	23
3.2.2. Méthodes d'évaluation antifongique.....	24

3.3. Activité antioxydante	25
3.3.1. Test DPPH.....	25
3.3.2. Test ABTS.....	26
3.3.3. Méthode FRAP.....	27
3.3.4. Autres méthodes complémentaires.....	27
3.4. Activité anti-inflammatoire.....	28
3.4.1. Mécanismes d'action	28
3.4.2. Tests in vitro.....	29
3.4.3. Tests in vivo	29
3.5. État des connaissances sur les activités biologiques du romarin	30

Matériel et Méthodes

Chapitre 4 : Matériel et méthodes.....	31
4.1. Matériel végétal et préparation	31
4.1.1. Récolte, identification et conditionnement.....	31
4.1.2. Séchage et broyage.....	31
4.2. Méthodes d'extraction et de préparation	32
4.2.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	32
4.2.2. Préparation de l'huile totale	33
4.2.3. Préparation des extraits végétaux	33
4.2.4. Détermination du rendement d'extraction	35
4.3. Évaluation des activités biologiques	35
4.3.1. Activité antibactérienne et antifongique.....	35
4.3.2. Activité antioxydante — méthode DPPH.....	36

Résultats et Discussion

Chapitre 5 : Résultats et discussion	38
5.1. Rendement des extraits végétaux.....	39
5.2. Activités biologiques	40
5.2.1. Évaluation de l'activité antioxydante.....	41
5.2.2. Activité antifongique.....	48
5.2.3. Activité antibactérienne.....	49

Conclusion

Conclusion.....	52
------------------------	-----------

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques.....	54
---	-----------

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau I	Composition chimique du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	10
Tableau II	Rendement des extraits végétaux	39

Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
Figure 01	Aspect morphologique des fleurs et des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	5
Figure 02	Illustration botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	6
Figure 03	Aspect général d'un plant de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	7
Figure 04	Montage expérimental d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles	16
Figure 05	Mécanisme réactionnel du radical DPPH lors de l'évaluation de l'activité antioxydante	26
Figure 06	Comparaison des principaux tests d'évaluation de l'activité antioxydante : DPPH, ABTS, FRAP et ORAC	26
Figure 07	Le montage utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle (hydrodistillation)	32
Figure 08	Extraction de l'huile totale	33
Figure 09	Méthode de diffusion sur disque	34
Figure 10	Les rendements (%) obtenus à partir des différents extraits de la matière végétale	39
Figure 11	Variation du pourcentage d'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'extrait aqueux	41
Figure 12	Variation du pourcentage d'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'extrait hexanique	42
Figure 13	Variation du pourcentage d'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'extrait éthanolique	43
Figure 14	Variation du pourcentage d'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'huile totale	44
Figure 15	Variation du pourcentage d'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'huile essentielle	45
Figure 16	Variation du pourcentage d'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'acide ascorbique	46
Figure 17	Comparaison des valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i>	47
Figure 18	Activité antifongique des différents extraits contre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	48
Figure 19	Activité antibactérienne des différents extraits contre les souches bactériennes testées	49
Figure 20	Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits vis-à-vis des microorganismes testés	50

Liste d'abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

ABTS : 2,2'-Azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ATCC : American Type Culture Collection

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMF : Concentration Minimale Fongicide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CO₂ : Dioxyde de carbone

CO₂-SC : Dioxyde de carbone supercritique

COX : Cyclooxygénase

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

DSS : Dextran Sodium Sulfate

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

g : Gramme

GC : Chromatographie en phase gazeuse

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

h : Heure

HE : Huile essentielle

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

HT : Huile totale

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %

IL-6 : Interleukine-6

LOX : Lipoxygénase

MAE : Extraction assistée par micro-ondes (Microwave-Assisted Extraction)

mg : Milligramme

mg/mL : Milligramme par millilitre

min : Minute

mL : Millilitre

mm : Millimètre

NF- κ B : Nuclear Factor kappa B

NO : Monoxyde d'azote

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PAM : Plantes aromatiques et médicinales

PDA : Potato Dextrose Agar

PLE : Pressurized Liquid Extraction

RAW 264.7 : Lignée cellulaire de macrophages murins

TAC : Total Antioxidant Capacity

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

UAE : Ultrasound-Assisted Extraction

Unités

Au cours des dernières décennies, la résistance aux antibiotiques est devenue l'un des défis majeurs de santé publique à l'échelle mondiale, compromettant l'efficacité des traitements conventionnels et favorisant l'émergence de souches microbiennes multi résistantes. Cette situation critique incite la communauté scientifique à explorer de nouvelles alternatives thérapeutiques, notamment à travers l'étude des molécules bioactives d'origine naturelle. Dans ce contexte, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) suscitent un intérêt croissant en raison de leur richesse en métabolites secondaires (phénols, flavonoïdes, terpènes, etc.) dotés de propriétés biologiques variées telles que les activités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et antifongiques. En Algérie, la biodiversité végétale méditerranéenne constitue un réservoir important de ressources phytothérapeutiques traditionnellement utilisées dans la pharmacopée populaire. Parmi ces espèces, le romarin (*Rosmarinus officinalis.L*), largement employé en médecine traditionnelle, occupe une place privilégiée pour le traitement de diverses affections, notamment digestives, respiratoires et infectieuses.

Sur le plan économique et écologique, le romarin représente une ressource stratégique dans les régions méditerranéennes, en particulier en Algérie, où il pousse spontanément dans les zones montagneuses et semi-arides. Cette plante s'adapte remarquablement aux conditions climatiques difficiles, contribuant ainsi à la préservation des sols, à la lutte contre l'érosion et à la valorisation des écosystèmes locaux. Par ailleurs, l'exploitation du romarin pour la production d'huiles essentielles, d'extraits végétaux et de produits phytopharmaceutiques constitue un levier économique non négligeable, notamment pour les filières de phytothérapie, de cosmétique et d'agroalimentaire. La valorisation scientifique de cette espèce permet ainsi d'allier développement durable, conservation de la biodiversité et innovation pharmaceutique.

Dans ce cadre, le présent travail s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources végétales locales à travers l'étude approfondie du romarin, en tant que plante médicinale d'intérêt thérapeutique et biotechnologique. L'objectif général de cette étude est de mettre en évidence le potentiel biologique et phytochimique de *Rosmarinus officinalis* à travers l'extraction, la caractérisation chimique et l'évaluation de ses activités biologiques.

De manière plus spécifique, ce travail vise à :

- Réaliser l'extraction des composés bioactifs à partir du romarin en utilisant différentes méthodes (huile essentielle, extrait aqueux et extrait éthanolique) .

- Effectuer la caractérisation chimique des extraits afin d'identifier les principaux constituants responsables des activités biologiques ;
- Évaluer quatre activités biologiques majeures (telles que l'activité antioxydante, antimicrobienne, antifongique, selon l'orientation expérimentale de l'étude) ;
- Analyser l'influence du type d'extraction sur le rendement, la composition chimique et l'efficacité biologique des extraits.

L'intérêt et l'originalité de ce sujet résident dans l'approche comparative entre l'huile essentielle et les extraits aqueux et éthanoliques du romarin, permettant d'identifier la forme extractive la plus efficace en termes d'activités biologiques. De plus, l'étude de l'influence de la provenance géographique (notamment en milieu méditerranéen algérien) sur la composition phytochimique et le potentiel bioactif de la plante apporte une valeur scientifique supplémentaire, compte tenu de l'impact des facteurs écologiques (climat, sol, altitude) sur la biosynthèse des métabolites secondaires. Ainsi, cette recherche contribue à la fois à la valorisation des PAM locales, à la recherche de nouvelles alternatives naturelles aux antibiotiques et au développement de solutions durables basées sur la richesse floristique algérienne.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1: Présentation botanique, écologique et ethnopharmacologique de *Rosmarinus officinalis*

1. Systématique et morphologie

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.), récemment reclassé dans le genre *Salvia* sous le nom *Salvia rosmarinus*, appartient à la famille des *Lamiaceae*, une famille riche en plantes aromatiques et médicinales caractérisées par leur forte teneur en huiles essentielles. Il s'agit d'un arbrisseau vivace, ligneux, aromatique et sempervirent, typique des écosystèmes méditerranéens.

1.1. Position systématique

Sur le plan taxonomique, le romarin se classe comme suit :

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus* (ou *Salvia* selon la révision taxonomique récente)

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.

Cette espèce est considérée comme l'une des plantes aromatiques et médicinales les plus importantes du bassin méditerranéen, en raison de sa richesse en métabolites secondaires et de ses multiples usages thérapeutiques et alimentaires.

1.2. Description morphologique

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est un arbrisseau vivace, ligneux et très ramifié, typique des régions méditerranéennes, pouvant atteindre 0,5 à 2 m de hauteur. Ses tiges deviennent lignifiées avec l'âge, tandis que les jeunes rameaux sont pubescents et riches en structures sécrétrices caractéristiques des Lamiacées (Rai & Mérillon, 2020 ; Peter, 2023).



Figure 01: Aspect morphologique des fleurs et des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L.

Wikimedia Commons. (s.d.)

Les feuilles sont persistantes, opposées, étroites, linéaires et coriaces, avec une face supérieure vert foncé et une face inférieure blanchâtre due à la forte présence de trichomes et de glandes sécrétrices d'huiles essentielles. Cette morphologie xéromorphique, associée à une cuticule épaisse et à des stomates principalement situés sur la face inférieure, constitue une adaptation aux conditions sèches du climat méditerranéen (Bozin et al., 2021 ; Bendahou et al., 2022).

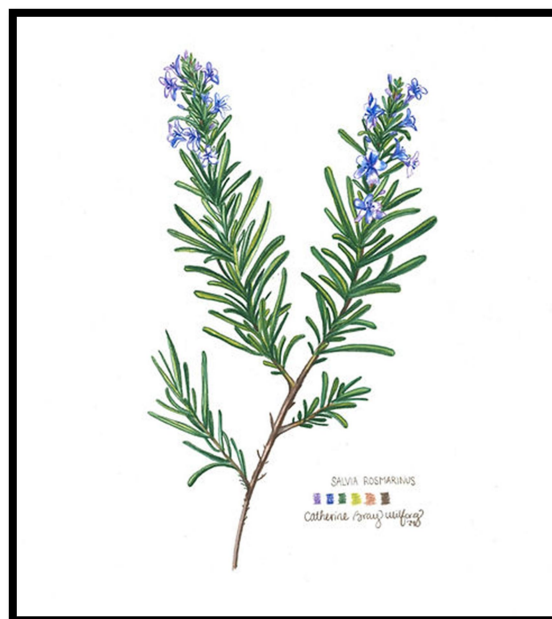


Figure 02: Illustration botanique de *Rosmarinus officinalis* L. (Von Greiffenberg, C. R. (1788))

Sur le plan anatomique, les feuilles possèdent des trichomes glandulaires peltés et capités responsables de la biosynthèse et du stockage des huiles essentielles riches en métabolites secondaires volatils, ce qui explique l'arôme intense et les propriétés biologiques du romarin. Les fleurs, généralement bleu pâle à violacées, sont bilabiées et disposées en grappes axillaires, tandis que le fruit est un tétrakène typique de la famille des Lamiaceae (Evans, 2020 ; Bendahou et al., 2022).



Figure 03: Aspect général d'un plant de *Rosmarinus officinalis* L. Wikimedia Commons. (s.d.)

2. Aire de répartition et écologie (spécialement en Algérie / région d'Ain Témouchent)

2.1. Répartition géographique

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une espèce typiquement méditerranéenne dont l'aire de répartition naturelle s'étend sur l'ensemble du bassin méditerranéen, englobant l'Europe méridionale, l'Afrique du Nord et certaines zones du Moyen-Orient. Cette distribution s'explique par son adaptation physiologique aux climats caractérisés par une forte luminosité, une sécheresse estivale marquée et des hivers relativement doux, conditions écologiques propres aux écosystèmes méditerranéens (**Rai & Mérillon, 2020 ; Elansary et al., 2022**).

En Afrique du Nord, et particulièrement en Algérie, le romarin constitue une espèce spontanée dominante dans la flore aromatique et médicinale. Il se rencontre abondamment dans les régions telliennes, les zones montagneuses, les hauts plateaux et les formations steppiques, traduisant une large amplitude écologique. Selon les travaux floristiques classiques et récents, cette espèce couvre des superficies considérables sous forme de populations naturelles, notamment dans les formations de maquis et de garrigue méditerranéenne (**Quézel & Santa, 1963 ; Benabid, 2019**). Sa présence est également fréquente dans les milieux ouverts, rocaillieux et faiblement anthropisés, où elle s'impose comme une composante végétale structurante des paysages méditerranéens.

2.2. Écologie et conditions de croissance

Du point de vue écologique, le romarin est une espèce xérophile, héliophile et thermophile, parfaitement adaptée aux milieux arides et semi-arides. Il présente une forte résistance au stress hydrique grâce à des adaptations morpho-physiologiques spécifiques, notamment des feuilles linéaires à cuticule épaisse, un port buissonnant et un système racinaire développé permettant l'exploitation des ressources hydriques profondes (**Mulas & Cani, 2010 ; Elansary et al., 2022**).

L'espèce se développe préférentiellement sur des sols pauvres, calcaires, pierreux ou sablo-limoneux, à bon drainage, souvent caractérisés par une faible fertilité et une faible teneur en matière organique. Cette plasticité édaphique lui permet de coloniser des habitats dégradés où peu d'espèces végétales persistent. De plus, le romarin tolère des amplitudes thermiques importantes et des précipitations irrégulières, ce qui renforce sa compétitivité écologique dans les bioclimats méditerranéens secs (**FAO, 2018**).

Sur le plan fonctionnel, cette espèce joue un rôle écologique majeur dans la stabilisation des sols et la limitation de l'érosion, notamment dans les zones sensibles à la désertification. Sa

couverture végétale contribue également à la conservation de la biodiversité locale et à la structuration des communautés végétales xérophiles. Par ailleurs, la synthèse élevée de métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles, constitue une stratégie adaptative face aux stress abiotiques (sécheresse, rayonnement solaire) et biotiques (herbivorie) (Boutekedjiret et al., 2003).

3. La photosynthèse *Rosmarinus officinalis* L

Comme toutes les plantes chlorophylliennes, *Rosmarinus officinalis* L. réalise la photosynthèse, un processus biologique permettant de convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique. Ce phénomène se déroule principalement au niveau des feuilles, dans les chloroplastes contenant la chlorophylle. Grâce à l'énergie solaire, la plante utilise le dioxyde de carbone (CO₂) de l'air et l'eau (H₂O) absorbée par les racines pour synthétiser des glucides nécessaires à sa croissance, tout en libérant de l'oxygène (O₂) dans l'atmosphère.

La photosynthèse peut être résumée par l'équation suivante :



Chez *Rosmarinus officinalis*, les feuilles persistantes, étroites et riches en chloroplastes assurent une activité photosynthétique efficace, particulièrement dans les régions méditerranéennes caractérisées par un fort ensoleillement. Cette capacité contribue à la production des métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques et les huiles essentielles responsables des propriétés biologiques de la plante.

4. Usages traditionnels du romarin en cuisine, en médecine populaire et en cosmétique

Le romarin (*Salvia rosmarinus* Spenn., anciennement *Rosmarinus officinalis* L.) constitue une plante aromatique et médicinale largement valorisée dans les traditions méditerranéennes, notamment en Algérie, en raison de sa richesse en composés bioactifs et de ses multiples applications dans les domaines culinaire, thérapeutique et cosmétique.

Sur le plan culinaire, le romarin est traditionnellement utilisé comme plante aromatique dans la gastronomie méditerranéenne et algérienne. Il est incorporé pour aromatiser les viandes, les

soupes, les sauces ainsi que divers plats traditionnels, en raison de son arôme caractéristique et de sa forte teneur en huiles essentielles. En outre, la présence de composés phénoliques, tels que l'acide rosmarinique et les diterpènes phénoliques, confère au romarin des propriétés antioxydantes naturelles contribuant à la protection des aliments contre l'oxydation lipidique et à l'amélioration de leur stabilité microbiologique (Nieto et al., 2018 ; Borrás-Linares et al., 2014).

Dans la médecine populaire, le romarin occupe une place importante au sein de la pharmacopée traditionnelle algérienne. Il est généralement administré sous forme d'infusion, de décoction ou d'huile essentielle pour le traitement de diverses affections courantes, notamment les troubles digestifs (dyspepsie, ballonnements), les affections respiratoires, les douleurs rhumatismales et musculaires, ainsi que les états de fatigue et les troubles circulatoires. Par ailleurs, il est également employé pour ses propriétés antiseptiques et antimicrobiennes dans la prise en charge des infections mineures. Ces usages empiriques sont aujourd'hui soutenus par des travaux scientifiques démontrant que les extraits de romarin possèdent des activités biologiques significatives, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes, attribuées principalement à l'acide rosmarinique, au carnosol et à l'acide carnosique (Andrade et al., 2018 ; Rai & Mérillon, 2020).

Dans le domaine cosmétique, le romarin est largement intégré dans les formulations phytocosmétiques et dermocosmétiques en raison de ses propriétés tonifiantes, antiseptiques et antioxydantes. Il est particulièrement utilisé dans les soins capillaires pour stimuler la microcirculation du cuir chevelu, favoriser la croissance des cheveux et limiter leur chute. De plus, il entre dans la composition de lotions tonifiantes, de produits purifiants pour la peau et de soins anti-âge, grâce à sa capacité à neutraliser les radicaux libres et à protéger les tissus cutanés contre le stress oxydatif. L'huile essentielle de romarin est également valorisée en aromathérapie et en parfumerie pour ses effets stimulants et rafraîchissants, ce qui renforce son intérêt dans l'industrie cosmétique naturelle (Pérez-Sánchez et al., 2019 ; Nieto et al., 2018).

5. Composition chimique globale du romarin

La composition chimique du romarin varie significativement en fonction de plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique, le chémotype, les conditions climatiques, le

stade phénologique, ainsi que la méthode d'extraction utilisée (distillation, extraction aqueuse, hydroalcoolique ou organique). De manière générale, les feuilles constituent la principale source de métabolites secondaires bioactifs, en particulier les polyphénols et les diterpènes phénoliques, qui sont fortement corrélés aux activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes des extraits de romarin. Cette richesse phytochimique confirme l'importance pharmacologique et nutraceutique de cette espèce au sein de la famille des Lamiacées.

Tableau I : Compositions chimique du Romarin

Classe chimique	Composant principal	Trouvé selon (méthode / variabilité)	Rôle biologique principal
Huiles essentielles (monoterpènes)	1,8-Cinéole	Distillation à la vapeur ; composition variable selon le chémotype et l'origine géographique (Ribeiro-Santos et al., 2015; Rašković et al., 2014)	Antimicrobien, expectorant, antioxydant
	Camphre	Hydrodistillation ; influencé par les conditions écologiques (Boutekedjiret et al., 2003; Ribeiro-Santos et al., 2015)	Anti-inflammatoire, analgésique, antiseptique
	α -Pinène	Analyse GC-MS des huiles essentielles ; variabilité environnementale (Rašković et al., 2014; Ribeiro-Santos et al., 2015)	Antibactérien, anti-inflammatoire, antioxydant
Huiles essentielles (alcools terpéniques)	Bornéol	Distillation et chromatographie GC-MS (Ribeiro-Santos et al., 2015)	Antiseptique, tonifiant, antimicrobien
Polyphénols (acides phénoliques)	Acide rosmarinique	Extraits aqueux et hydroalcooliques (Borrás-Linares et al., 2014; Nieto et al., 2018)	Antioxydant puissant, anti-inflammatoire
Acides phénoliques	Acide caféique	Extraction méthanolique et éthanolique (Borrás-Linares et al., 2014)	Antioxydant, protecteur cellulaire
	Acide chlorogénique	Extraits polaires ; dépend du stade de croissance (Ghasemzadeh et al., 2016)	Antioxydant, anti-inflammatoire
Flavonoïdes	Lutéoline	Extraction hydroalcoolique et	Antioxydant,

Synthèse Bibliographique

		analyse HPLC (Borrás-Linares et al., 2014)	antimicrobien, anti-inflammatoire
	Diosmétine	Fraction flavonoïdique (Borrás-Linares et al., 2014)	Antioxydant, protecteur vasculaire
	Hespéridine	Extraits éthanoliques et méthanoliques (Borrás-Linares et al., 2014)	Antioxydant, anti-inflammatoire
	Genkwanine	Analyse HPLC (Borrás-Linares et al., 2014)	Antioxydant, antimicrobien
Diterpènes phénoliques	Acide carnosique	Extraits lipophiles et éthanoliques (Borrás-Linares et al., 2014; Hamidpour et al., 2017)	Antioxydant majeur, anti-inflammatoire
	Carnosol	Extraction organique (Borrás-Linares et al., 2014)	Antioxydant, activité anticancéreuse potentielle
	Isorosmanol	Fraction diterpénique (Borrás-Linares et al., 2014)	Antioxydant, protecteur cellulaire
	Rosmadial	Analyse GC-MS/HPLC (Borrás-Linares et al., 2014)	Antioxydant, antimicrobien
Triterpènes	Acide ursolique	Extraction par solvants organiques (Hamidpour et al., 2017)	Anti-inflammatoire, cicatrisant
	Acide oléanolique	Extraits lipophiles et hydroalcooliques (Hamidpour et al., 2017)	Hépatoprotecteur, anti-inflammatoire
Tanins et autres composés	Tanins	Extraits aqueux et hydroalcooliques (Ghasemzadeh et al., 2016)	Astringent, antimicrobien
Composés divers	Stéroïdes et composés lipidiques	Extraction lipophile (Hamidpour et al., 2017)	Protection membranaire, activité biologique globale

Chapitre 2: Les huiles essentielles et extraits végétaux

1. Définition et classification des huiles essentielles

1.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont définies comme des mélanges complexes de composés organiques volatils, lipophiles et aromatiques, biosynthétisés par les plantes aromatiques dans le cadre de leur métabolisme secondaire. Elles renferment principalement des terpènes, des terpénoïdes et des dérivés phénylpropanoïdes, molécules responsables de leurs propriétés organoleptiques et de leurs activités biologiques, notamment antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Sur le plan physicochimique, les huiles essentielles se caractérisent par leur volatilité, leur faible solubilité dans l'eau et leur affinité pour les solvants organiques, ce qui les distingue des huiles végétales fixes (Bakkali et al., 2008 ; Sharifi-Rad et al., 2017).

Selon la définition normalisée de la Pharmacopée Européenne, une huile essentielle est un produit odorant obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur d'eau, par hydrodistillation, soit par un procédé mécanique approprié, notamment l'expression à froid pour les péricarpes d'agrumes. Cette définition souligne l'importance du procédé d'extraction dans la standardisation et la qualité pharmaceutique des huiles essentielles (European Pharmacopoeia, 2022).

Dans le cas du romarin, identifié scientifiquement comme *Salvia rosmarinus* (*Rosmarinus officinalis*), l'huile essentielle est principalement extraite des feuilles et des sommités fleuries, qui contiennent des trichomes glandulaires sécréteurs riches en composés volatils bioactifs tels que le 1,8-cinéole, le camphre et l' α -pinène. Ces constituants confèrent à l'huile essentielle de romarin un potentiel pharmacologique important, notamment des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Nieto et al., 2018 ; Andrade et al., 2022).

1.2. Classification des huiles essentielles

La classification des huiles essentielles repose sur plusieurs critères scientifiques complémentaires, incluant l'origine botanique, la composition chimique dominante et la

notion de chimiotype, permettant une meilleure compréhension de leurs propriétés pharmacologiques et thérapeutiques.

1.2.1. Classification selon l'origine botanique (organe végétal)

Du point de vue pharmacognostique, les huiles essentielles peuvent être classées en fonction de l'organe végétal utilisé pour l'extraction, étant donné que la biosynthèse et l'accumulation des métabolites secondaires varient selon les tissus végétaux :

- Huiles essentielles de feuilles (ex. romarin, eucalyptus)
- Huiles essentielles de fleurs (ex. lavande, camomille)
- Huiles essentielles d'écorces (ex. cannelle)
- Huiles essentielles de graines (ex. fenouil, anis)

Cette classification est essentielle en phytochimie, car la composition qualitative et quantitative des huiles essentielles dépend directement de l'organe distillé et de la densité des structures sécrétoires (**Sharifi-Rad et al., 2017**).

1.2.2. Classification selon la composition chimique dominante

Une autre approche scientifique consiste à classer les huiles essentielles selon la famille chimique majoritaire de leurs constituants, ce qui permet d'anticiper leurs activités biologiques et leur profil toxicologique :

- Huiles essentielles riches en monoterpènes (ex. limonène, α -pinène)
- Huiles essentielles riches en monoterpénols (ex. linalol, géraniol)
- Huiles essentielles riches en cétones (ex. camphre)
- Huiles essentielles riches en oxydes (ex. 1,8-cinéole)
- Huiles essentielles riches en phénols (ex. thymol, carvacrol)

La dominance d'une famille chimique spécifique influence fortement l'activité biologique, la stabilité oxydative et l'usage thérapeutique des huiles essentielles (**Dhifi et al., 2016 ; Andrade et al., 2022**).

1.2.3. Classification selon les chimiotypes

Le concept de chimiotype désigne une variation qualitative et quantitative de la composition chimique d'une huile essentielle au sein d'une même espèce botanique, sous l'influence de facteurs génétiques, écologiques et environnementaux tels que le climat, l'altitude, la nature du sol et les conditions de culture.

Chez *Salvia rosmarinus*, plusieurs chimiotypes ont été identifiés, notamment le chimiotype à 1,8-cinéole, le chimiotype à camphre et le chimiotype à verbénone. Ces variations biochimiques modulent significativement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques de l'huile essentielle, ce qui rend la détermination du chimiotype indispensable dans les études pharmacologiques, toxicologiques et dans la standardisation des produits à base de plantes (Nieto et al., 2018 ; European Pharmacopoeia, 2022).

2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

2.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation constitue la méthode classique la plus couramment employée dans les laboratoires universitaires pour l'extraction des HE de plantes aromatiques et médicinales. Elle consiste à immerger la matière végétale dans l'eau, puis à porter l'ensemble à ébullition. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau, condensés, puis séparés par décantation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Cette technique repose sur le principe de la co-distillation eau-huile, permettant l'extraction à une température inférieure au point d'ébullition des constituants isolés (European Pharmacopoeia, 2022).

Sur le plan méthodologique, l'hydrodistillation présente l'avantage d'être simple, reproductible et peu coûteuse, ce qui explique son utilisation fréquente dans les travaux académiques. Elle permet généralement une bonne récupération des composés aromatiques majoritaires. Toutefois, l'exposition prolongée à la chaleur peut entraîner l'hydrolyse ou la dégradation de certaines molécules thermolabiles, ainsi qu'une modification du profil chimique initial (Baser & Buchbauer, 2015).

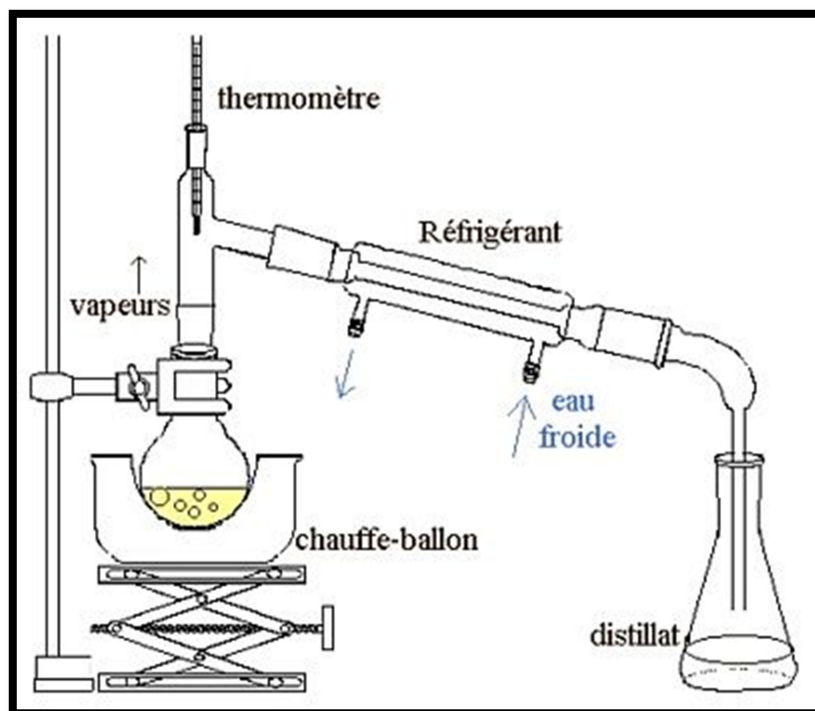


Figure 04: Montage expérimental d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles.

2.2. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau, ou distillation à la vapeur, repose sur le passage d'un flux de vapeur à travers la matière végétale disposée sur une grille, sans immersion directe dans l'eau. Les composés volatils sont vaporisés, puis condensés et séparés par décantation. Ce procédé est largement utilisé à l'échelle industrielle pour la production d'huiles essentielles (Masango, 2005).

Comparativement à l'hydrodistillation, cette technique réduit le risque de dégradation thermique et limite les réactions d'hydrolyse, car la plante n'est pas en contact direct avec l'eau bouillante. Elle offre généralement un meilleur rendement et une qualité chimique plus stable, notamment pour les composés oxygénés sensibles. En revanche, elle nécessite un équipement plus élaboré et un contrôle précis des paramètres opératoires (température, pression, durée) (Chemat et al., 2017).

2.3. Extraction par solvants organiques

L'extraction par solvants organiques (éthanol, méthanol, hexane, dichlorométhane, etc.) est utilisée lorsque la distillation n'est pas adaptée, notamment pour les matrices fragiles ou pauvres en composés strictement volatils. Cette méthode repose sur la capacité du solvant à

solubiliser les métabolites secondaires selon leur polarité, permettant l'obtention d'extraits dits « totaux » riches en composés volatils et non volatils (Azwanida, 2015).

Cette approche présente un rendement élevé et une large gamme d'extraction, incluant les terpènes, composés phénoliques et autres substances lipophiles. Elle est particulièrement pertinente dans les études phytochimiques globales. Cependant, la présence éventuelle de résidus de solvants constitue une limite importante, notamment pour les applications pharmaceutiques ou alimentaires. De plus, la sélectivité dépend fortement de la polarité du solvant utilisé, ce qui peut modifier le profil chimique final de l'extrait (Azwanida, 2015 ; Chemat et al., 2017).

2.4. Extraction au CO₂ supercritique

L'extraction au dioxyde de carbone supercritique (CO₂-SC) représente une technologie moderne et écologique. Au-delà de son point critique (31,1 °C et 73,8 bar), le CO₂ acquiert des propriétés intermédiaires entre celles d'un liquide et d'un gaz, lui conférant un fort pouvoir solvant et une excellente diffusivité. Cette technique permet d'extraire sélectivement les constituants bioactifs sous des conditions modérées de température, limitant ainsi leur dégradation (Herrero et al., 2010).

L'un des principaux avantages de cette méthode réside dans l'absence de solvants organiques toxiques et dans la pureté élevée des extraits obtenus. La sélectivité peut être modulée en ajustant la pression et la température, ce qui permet d'optimiser l'extraction de fractions spécifiques. En raison de ces caractéristiques, l'extraction au CO₂ supercritique est particulièrement recommandée pour les applications pharmaceutiques, cosmétiques et nutraceutiques nécessitant des huiles essentielles de haute qualité. Néanmoins, son coût d'investissement demeure élevé, limitant son accessibilité dans certains contextes académiques (Herrero et al., 2010 ; Chemat et al., 2017).

3. Principaux constituants des huiles essentielles de *Salvia rosmarinus* (chimiotypes)

L'huile essentielle de *Salvia rosmarinus* (*Rosmarinus officinalis* L.) se caractérise par une composition chimique complexe dominée par des monoterpènes hydrocarbonés et des monoterpènes oxygénés. Cette composition varie de manière significative selon l'origine

géographique, les conditions édapho-climatiques (température, pluviométrie, altitude), la nature du sol, ainsi que le stade phénologique de la plante au moment de la récolte. Ces variations qualitatives et quantitatives expliquent l'existence de différents chimiotypes au sein d'une même espèce botanique (**Baser & Buchbauer, 2015 ; Elshafie et al., 2015**).

3.1. Composants majoritaires

Les analyses chromatographiques (GC et GC-MS) des huiles essentielles de *S. rosmarinus* mettent généralement en évidence la prédominance des composés suivants :

- 1,8-cinéole (eucalyptol)
- Camphre
- α -pinène
- β -pinène
- Bornéol
- Camphène
- Limonène

Le 1,8-cinéole est fréquemment rapporté comme constituant majoritaire dans de nombreuses populations méditerranéennes. Il est associé à des propriétés expectorantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, ce qui explique son utilisation en phytothérapie respiratoire (**Borges et al., 2019**).

Le camphre, cétone monoterpénique, confère à l'huile essentielle une activité antimicrobienne notable ainsi qu'un effet stimulant et rubéfiant. Toutefois, sa concentration doit être contrôlée en raison de sa potentielle neurotoxicité à fortes doses (**Baser & Buchbauer, 2015**).

Les monoterpènes hydrocarbonés tels que α -pinène et β -pinène contribuent aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de l'huile essentielle. Le bornéol et le limonène participent également à l'activité antimicrobienne et à la modulation des réponses inflammatoires (**Nieto et al., 2018**).

Ainsi, la synergie entre ces différents constituants explique la diversité des effets biologiques attribués à l'huile essentielle de romarin, notamment ses activités antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire.

3.2. Chimiotypes du romarin

La notion de chimiotype désigne une variation chimique intraspécifique caractérisée par la dominance d'un composé particulier au sein de l'huile essentielle, sans modification morphologique significative de la plante. Chez *S. rosmarinus*, plusieurs chimiotypes ont été décrits :

- Chimiotype à 1,8-cinéole :

Fréquent dans plusieurs régions du bassin méditerranéen, ce chimiotype est particulièrement valorisé pour ses propriétés expectorantes, mucolytiques et antimicrobiennes. Il est souvent utilisé dans les préparations destinées aux affections respiratoires.

- Chimiotype à camphre :

Caractérisé par une forte proportion de camphre, il présente des propriétés antimicrobiennes et stimulantes plus marquées. Il est généralement employé dans les formulations à visée topique.

- Chimiotype à α -pinène :

Dominé par l' α -pinène, ce profil chimique est associé à une activité antioxydante et anti-inflammatoire significative, ainsi qu'à des effets potentiellement bronchodilatateurs (**Elshafie et al., 2015**).

En Algérie, les études phytochimiques menées sur les populations spontanées de romarin indiquent fréquemment l'existence d'un chimiotype mixte à 1,8-cinéole/camphre. Cette distribution chimique semble fortement influencée par les facteurs écologiques tels que la température moyenne annuelle, l'altitude et la nature du substrat. Dans les zones littorales de l'Ouest algérien, notamment dans la région d'Aïn Témouchent, les conditions climatiques de type méditerranéen semi-aride favorisent souvent des profils riches en monoterpènes oxygénés (**Kadri et al., 2011 ; Elshafie et al., 2015**).

Ces variations chimiotypiques présentent un intérêt majeur pour la valorisation pharmacologique et industrielle du romarin, car elles conditionnent directement la qualité biologique et l'orientation thérapeutique des huiles essentielles obtenues.

4. Extraction des composés phénoliques non volatils

Contrairement aux huiles essentielles, les composés phénoliques sont des métabolites secondaires majoritairement non volatils, hydrophiles ou semi-polaires, incluant notamment les polyphénols, flavonoïdes, l'acide rosmarinique, ainsi que les diterpènes phénoliques tels que l'acide carnosique et le carnosol. En raison de leur polarité et de leur sensibilité thermique, leur extraction nécessite l'emploi de techniques spécifiques et de solvants adaptés, généralement polaires (eau, éthanol, méthanol ou leurs mélanges). Le choix de la méthode d'extraction influence directement la teneur en composés bioactifs, l'activité antioxydante et la qualité phytochimique des extraits végétaux (Dai & Mumper, 2010 ; Chemat et al., 2017).

Chez *Salvia rosmarinus*, les extraits phénoliques sont particulièrement étudiés en raison de leur richesse en acide rosmarinique et en diterpènes phénoliques, reconnus pour leurs activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Nieto et al., 2018).

4.1. Macération

La macération est une technique d'extraction solide-liquide qui consiste à immerger la poudre végétale dans un solvant approprié à température ambiante pendant une durée déterminée, généralement de quelques heures à plusieurs jours, avec agitation occasionnelle. Cette méthode favorise la diffusion progressive des composés phénoliques du matériel végétal vers le solvant par gradient de concentration (Azwanida, 2015).

Sur le plan méthodologique, la macération présente l'avantage d'être simple, économique et facilement reproductible en laboratoire universitaire. Elle permet une bonne préservation des composés thermolabiles, notamment les flavonoïdes et les acides phénoliques sensibles à la chaleur. Elle est donc particulièrement adaptée à l'extraction des polyphénols totaux et de l'acide rosmarinique.

Cependant, cette technique présente certaines limites, notamment un temps d'extraction relativement long et un rendement parfois modéré en comparaison avec les méthodes assistées. De plus, l'efficacité de l'extraction dépend fortement de la nature du solvant, du rapport solide/solvant et de la granulométrie de la poudre végétale (Dai & Mumper, 2010).

4.2. Extraction Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode d'extraction continue à chaud reposant sur le recyclage du solvant par reflux. Le solvant chauffé s'évapore, se condense puis traverse à plusieurs reprises la matrice végétale, assurant ainsi une extraction exhaustive des composés bioactifs. Cette technique est largement utilisée comme méthode de référence dans les études phytochimiques (Azwanida, 2015).

L'un des principaux avantages de la méthode Soxhlet réside dans son rendement élevé et sa capacité à extraire efficacement une large gamme de composés phénoliques, y compris les diterpènes phénoliques du romarin. Elle permet également une meilleure standardisation expérimentale, ce qui la rend adaptée aux travaux de recherche académique.

Néanmoins, l'exposition prolongée à des températures élevées peut entraîner la dégradation de certains composés thermosensibles, notamment certains flavonoïdes. Par ailleurs, cette méthode implique une consommation importante de solvants organiques et un temps d'extraction relativement long, ce qui constitue une contrainte environnementale et opérationnelle (Chemat et al., 2017).

4.3. Extraction assistée par ultrasons (UAE)

L'extraction assistée par ultrasons (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE) est une technique moderne basée sur le phénomène de cavitation acoustique. Les ondes ultrasonores provoquent la formation et l'implosion de microbulles dans le solvant, entraînant la rupture des parois cellulaires végétales et facilitant la libération des composés phénoliques (Chemat et al., 2017).

Cette méthode se distingue par une réduction significative du temps d'extraction et une amélioration du rendement en polyphénols et flavonoïdes par rapport aux méthodes conventionnelles. Elle permet également une diminution de la consommation de solvants et une meilleure préservation des molécules bioactives grâce à des températures d'extraction modérées.

Chez le romarin, l'UAE a montré une efficacité particulière pour l'extraction de l'acide rosmarinique et des composés phénoliques totaux, contribuant à l'augmentation de l'activité antioxydante des extraits obtenus (Nieto et al., 2018).

▪ Autres techniques modernes d'extraction

Outre les méthodes conventionnelles, plusieurs techniques innovantes sont actuellement utilisées pour optimiser l'extraction des composés phénoliques du romarin :

- **Extraction assistée par micro-ondes (MAE)** : elle repose sur l'échauffement rapide du solvant et de la matrice végétale par irradiation micro-ondes, favorisant la diffusion des composés phénoliques et réduisant le temps d'extraction.
- **Extraction par fluide supercritique** : utilisant principalement le CO₂ supercritique, parfois modifié par des co-solvants polaires, elle permet l'extraction sélective de composés phénoliques avec une haute pureté.
- **Extraction pressurisée (PLE/ASE)** : cette technique combine température et pression élevées pour améliorer la solubilité et la diffusion des métabolites phénoliques, augmentant ainsi l'efficacité d'extraction.

Ces approches modernes permettent d'obtenir des extraits particulièrement riches en acide rosmarinique, acide carnosique et flavonoïdes, principaux responsables des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires élevées des extraits aqueux et hydroalcooliques de romarin (Herrero et al., 2010 ; Dai & Mumper, 2010).

Ainsi, la combinaison judicieuse des méthodes d'extraction des huiles essentielles (composés volatils) et des composés phénoliques (non volatils) permet une valorisation optimale du potentiel phytochimique et biologique du romarin, en fonction des objectifs analytiques, pharmacologiques et biotechnologiques de l'étude.

Chapitre 3: Activités biologiques recherchées

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une source importante de composés bioactifs dotés de propriétés pharmacologiques diversifiées. Parmi celles-ci, *Salvia rosmarinus* (*Rosmarinus officinalis* L.) a suscité un intérêt scientifique croissant en raison de sa richesse en huiles essentielles, en polyphénols et en diterpènes phénoliques, notamment l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol. Ces métabolites secondaires sont responsables d'un large spectre d'activités biologiques, incluant des effets antibactériens, antifongiques, antioxydants et anti-inflammatoires, largement documentés dans les études phytochimiques et pharmacologiques récentes (Nieto et al., 2018 ; Borges et al., 2019).

1. Activité antibactérienne

1.1. Mécanismes d'action antibactériens

L'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits de romarin est principalement attribuée à la synergie entre les monoterpènes (1,8-cinéole, α -pinène, camphre) et les composés phénoliques (acide rosmarinique, acide carnosique, carnosol). Ces composés exercent leurs effets par plusieurs mécanismes biochimiques et microbiologiques ciblant la cellule bactérienne (Borges et al., 2019).

Sur le plan moléculaire, les composés lipophiles des huiles essentielles interagissent avec la membrane cytoplasmique bactérienne, entraînant une altération de sa perméabilité et une fuite des ions et macromolécules essentielles. Cette perturbation membranaire s'accompagne d'une dénaturation des protéines membranaires et d'une inhibition des systèmes enzymatiques impliqués dans le métabolisme énergétique. Par ailleurs, plusieurs études ont démontré leur capacité à induire un stress oxydatif intracellulaire et à inhiber la formation du biofilm bactérien, mécanisme clé de résistance microbienne (Burt, 2004 ; Borges et al., 2019).

Ces effets sont observés aussi bien chez les bactéries Gram positives que Gram négatives, bien que les Gram positives soient généralement plus sensibles en raison de la structure plus simple de leur paroi cellulaire (Nazzaro et al., 2013).

1.2. Tests in vitro d'évaluation

1.2.1. Méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme)

La méthode de diffusion sur gélose est une technique qualitative couramment utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits végétaux. Elle repose sur la diffusion de l'huile essentielle ou de l'extrait dans un milieu gélosé préalablement ensemencé par une souche bactérienne. L'apparition d'une zone claire autour du disque ou du puits traduit l'inhibition de la croissance microbienne, mesurée par le diamètre de la zone d'inhibition (mm) (**Balouiri et al., 2016**).

1.2.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

La microdilution en bouillon constitue une méthode quantitative de référence pour l'évaluation pharmacologique des extraits végétaux. Elle permet de déterminer :

- la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice), correspondant à la plus faible concentration inhibant la croissance bactérienne ;
- la CMB (Concentration Minimale Bactéricide), définie comme la concentration entraînant la mort bactérienne.

Cette approche est largement recommandée pour l'étude de l'activité antimicrobienne contre des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Balouiri et al., 2016**).

2. Activité antifongique

2.1. Spectre antifongique

Le romarin présente une activité antifongique significative contre différents types de microorganismes fongiques, notamment les levures (ex. *Candida* spp.), les moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*) et certains champignons filamenteux pathogènes. Cette activité est principalement liée aux monoterpènes oxygénés et aux diterpènes phénoliques qui altèrent l'intégrité de la membrane cellulaire fongique et inhibent la biosynthèse de l'ergostérol, composant essentiel de la membrane des champignons (**Pinto et al., 2009 ; Nieto et al., 2018**).

2.2. Méthodes d'évaluation antifongique

2.2.1. Diffusion sur gélose

Cette méthode repose sur l'observation des zones d'inhibition fongique autour de disques imprégnés d'extraits ou d'huiles essentielles, permettant une évaluation qualitative de l'activité antifongique.

2.2.2. Méthode de microdilution

Elle permet la détermination de la CMI antifongique et de la CMF (Concentration Minimale Fongicide), indicateurs essentiels pour l'évaluation de l'efficacité antifongique des extraits végétaux (CLSI, 2020).

Tests spécifiques sur champignons filamenteux

Des tests complémentaires sont utilisés, tels que :

- la mesure de la croissance radiale du mycélium ;
- l'inhibition de la germination des spores ;
- le test d'incorporation dans le milieu PDA (Potato Dextrose Agar).

Ces méthodes sont particulièrement pertinentes dans les domaines agroalimentaire et pharmaceutique pour l'évaluation des conservateurs naturels d'origine végétale.

3. Activité antioxydante

L'activité antioxydante du romarin est largement attribuée à sa forte teneur en polyphénols, flavonoïdes et diterpènes phénoliques, notamment l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol, capables de neutraliser les radicaux libres et de limiter le stress oxydatif cellulaire (Nieto et al., 2018 ; Yesil-Celiktas et al., 2010).

3.1. Test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le test DPPH est basé sur la capacité des antioxydants à réduire le radical libre DPPH•, entraînant une diminution de l'absorbance mesurée par spectrophotométrie. Les paramètres généralement évalués sont le pourcentage d'inhibition (%) et la valeur IC₅₀, correspondant à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical (Brand-Williams et al., 1995).

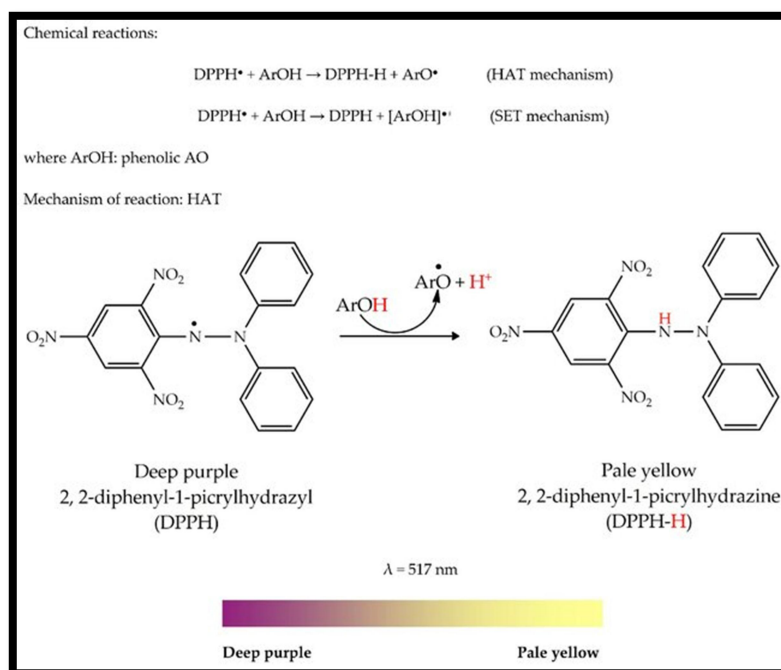


Figure 05: Mécanisme réactionnel du radical DPPH lors de l'évaluation de l'activité antioxydante (Apak et al., 2016).

3.2. Test ABTS

La méthode ABTS repose sur la capacité des extraits à piéger le radical cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$, permettant d'évaluer le potentiel antioxydant global, y compris pour les composés hydrophiles et lipophiles (Re et al., 1999).

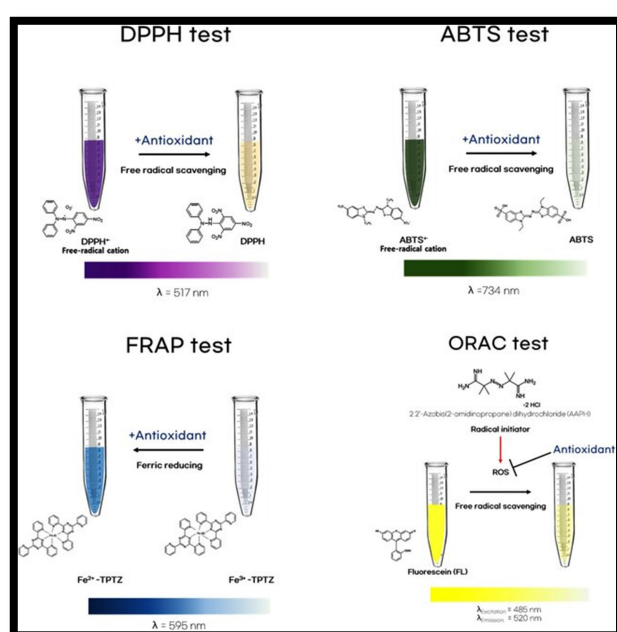


Figure 06: Comparaison des principaux tests d'évaluation de l'activité antioxydante : DPPH, ABTS, FRAP et ORAC (Apak *et al.*, 2016).

3.3. Méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La méthode FRAP mesure le pouvoir réducteur des extraits en évaluant leur capacité à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), indicateur direct du potentiel antioxydant (Benzie & Strain, 1996).

3.4. Autres méthodes complémentaires

Plusieurs tests complémentaires sont fréquemment utilisés, notamment :

- le test du pouvoir réducteur ;
- le système β -carotène/acide linoléique ;
- la capacité antioxydante totale (TAC) ;
- le dosage des polyphénols totaux (méthode de Folin-Ciocalteu) ;
- le dosage des flavonoïdes totaux.

Les études comparatives montrent que les extraits aqueux et hydroalcooliques de romarin présentent généralement une activité antioxydante plus élevée que l'huile essentielle, en raison de leur richesse en composés phénoliques non volatils (Dai & Mumper, 2010 ; Nieto *et al.*, 2018).

4. Activité anti-inflammatoire

4.1. Mécanismes d'action anti-inflammatoires

Les composés bioactifs du romarin, notamment l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique, exercent des effets anti-inflammatoires par l'inhibition de plusieurs voies moléculaires clés de l'inflammation. Ces composés inhibent les enzymes cyclooxygénases (COX) et lipoxygénases (LOX), réduisent la production d'oxyde nitrique (NO) et diminuent l'expression des cytokines pro-inflammatoires telles que le $\text{TNF-}\alpha$ et l'IL-6 (Borges *et al.*, 2019).

De plus, ils modulent la voie de signalisation NF- κ B, impliquée dans la régulation des médiateurs inflammatoires, contribuant ainsi à la réduction du stress oxydatif et de l'inflammation cellulaire (Nieto et al., 2018).

4.2. Tests in vitro

Les principaux tests in vitro utilisés pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits de romarin incluent :

- L'inhibition des enzymes COX-1 et COX-2 ;
- L'inhibition de la 5-LOX ;
- L'inhibition de la production de NO dans les macrophages (lignée RAW 264.7) ;
- Le test de stabilisation de la membrane des érythrocytes.

4.3. Tests in vivo

Plusieurs modèles expérimentaux sont utilisés pour confirmer l'effet anti-inflammatoire in vivo, notamment :

- Le modèle d'œdème de la patte induit par la carraghénine ;
- Les modèles de colite induite (acide acétique, DSS) ;
- Les modèles d'inflammation cutanée ;
- Les modèles d'arthrite expérimentale.

Ces modèles permettent d'évaluer l'efficacité pharmacologique et la sécurité des extraits végétaux dans des conditions physiopathologiques simulées (Yesil-Celiktas et al., 2010).

5. État des connaissances sur les activités biologiques du romarin

Les études scientifiques récentes confirment que le romarin possède un large spectre d'activités biologiques directement liées à sa composition phytochimique. Les huiles essentielles riches en 1,8-cinéole et en camphre présentent une activité antibactérienne significative contre des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des valeurs de CMI variables selon le chimiotype et l'origine géographique (Borges et al., 2019 ; Nazzaro et al., 2013).

Par ailleurs, plusieurs travaux ont démontré que les extraits hydroalcooliques de romarin présentent une activité antioxydante élevée, fortement corrélée à leur teneur en acide rosmarinique et en diterpènes phénoliques. Les extraits riches en polyphénols montrent généralement un pouvoir piègeur des radicaux libres supérieur à celui des huiles essentielles, soulignant l'importance du choix de la méthode d'extraction dans les études phytochimiques **(Dai & Mumper, 2010)**.

Concernant l'activité antifongique, des recherches récentes ont mis en évidence l'efficacité de l'huile essentielle de romarin contre diverses levures et moisissures d'intérêt médical et agroalimentaire, suggérant son potentiel comme agent de conservation naturel. En outre, des investigations pharmacologiques contemporaines confirment son activité anti-inflammatoire par l'inhibition des médiateurs inflammatoires et des enzymes pro-inflammatoires, ce qui soutient son usage traditionnel dans le traitement des affections inflammatoires et infectieuses **(Nieto et al., 2018)**.

Enfin, plusieurs études menées dans le bassin méditerranéen et en Afrique du Nord montrent que la variabilité chimique liée à l'origine géographique, aux facteurs climatiques et aux conditions écologiques influence significativement les activités biologiques du romarin. Cette variabilité est particulièrement pertinente dans le contexte algérien, où les populations spontanées, notamment dans les régions littorales de l'Ouest, présentent des profils phytochimiques distincts, renforçant l'intérêt de leur caractérisation pour la valorisation pharmacologique et la recherche d'alternatives naturelles aux agents antimicrobiens et antioxydants de synthèse.

Matériel

Et Méthodes

Chapitre 04 : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal et préparation

1.1. Récolte, identification et conditionnement

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de feuilles de *Rosmarinus officinalis* L. (romarin), acquises auprès d'un herboriste de la région d'Aïn Témouchent (Algérie) au cours du mois de février 2026. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée sur la base de ses caractères morphologiques et en se référant aux ouvrages de botanique relatifs à la flore algérienne.

Après acquisition, les feuilles ont été débarrassées des impuretés et conservées dans des conditions appropriées jusqu'à leur utilisation.

1.2. Séchage et broyage

Les feuilles de *Rosmarinus officinalis* ont été séchées à l'air libre, à température ambiante et à l'abri de la lumière directe du soleil afin de préserver les composés bioactifs. Après séchage complet, le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine homogène. Cette poudre a ensuite été conservée dans des récipients hermétiques à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation pour les différentes extractions.

2. Méthodes d'extraction et de préparation

2.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été obtenue par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Une quantité déterminée de matériel végétal séché a été placée dans un ballon contenant de l'eau distillée puis soumise à l'ébullition pendant trois heures. Les vapeurs d'eau entraînant les composés volatils ont été condensées puis recueillies dans le dispositif de Clevenger. L'huile essentielle obtenue a été séparée de la phase aqueuse, séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre puis conservée à 4 °C dans des flacons ambrés jusqu'à son utilisation (Figure 07).



Figure 07: Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle (hydrodistillation)

Le rendement de l'huile essentielle a été calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{\text{Masse d'huile essentielle obtenue}}{\text{Masse de la matière végétale}} \times 100$$

2.2. Préparation de l'huile totale

Extraction d'huile totale Le méthanol a été utilisé pour extraire les composés, suivi d'une filtration après une période de macération de 24 heures sous agitation. Le liquide filtré a été combiné dans une ampoule à décanter avec 50 ml d'hexane. Après agitation, deux phases distinctes se sont formées : une phase aqueuse plus dense située en bas, et une phase organique contenant les lipides. La phase organique supérieure a été récupérée, cette étape a été répétée trois fois en changeant le solvant à chaque fois (Figure 08). L'hexane a ensuite été évaporé. L'extrait obtenu est considéré comme l'huile totale (HT) de *Rosmarinus officinalis* L.



Figure 08: Extraction de l'huile totale.

2.3. Préparation des extraits végétaux

▪ Préparation de l'extrait aqueux

Une quantité de 50 g de poudre végétale a été mise à macérer dans 500 mL d'eau distillée pendant 24 heures à température ambiante sous agitation. Après macération, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat obtenu a ensuite été conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation.

▪ Préparation de l'extrait éthanolique

Une prise d'essai de 40 g de poudre végétale a été mise à macérer dans 200 mL d'éthanol pendant 24 heures sous agitation magnétique à température ambiante. Après filtration, l'extrait a été concentré par évaporation du solvant puis conservé à 4 °C jusqu'à utilisation.

▪ Préparation de l'extrait hexanique

Une quantité de 40 g de poudre végétale a été mise à macérer dans 200 mL d'hexane pendant 24 heures sous agitation magnétique à température ambiante. Après filtration, le solvant a été éliminé par évaporation et l'extrait obtenu a été conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation.

2.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{\text{Masse de l'extrait sec obtenue}}{\text{Masse de la matière végétale}} \times 100$$

3. Évaluation des activités biologiques

3.1. Activité antibactérienne et antifongique

▪ Microorganismes testés

L'activité antimicrobienne des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* a été évaluée vis-à-vis de quatre souches bactériennes de référence et d'une levure. Les souches utilisées sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Candida albicans* ATCC 10231. Ces microorganismes ont été choisis en raison de leur intérêt médical et de leur utilisation fréquente dans les essais d'évaluation de l'activité antimicrobienne.

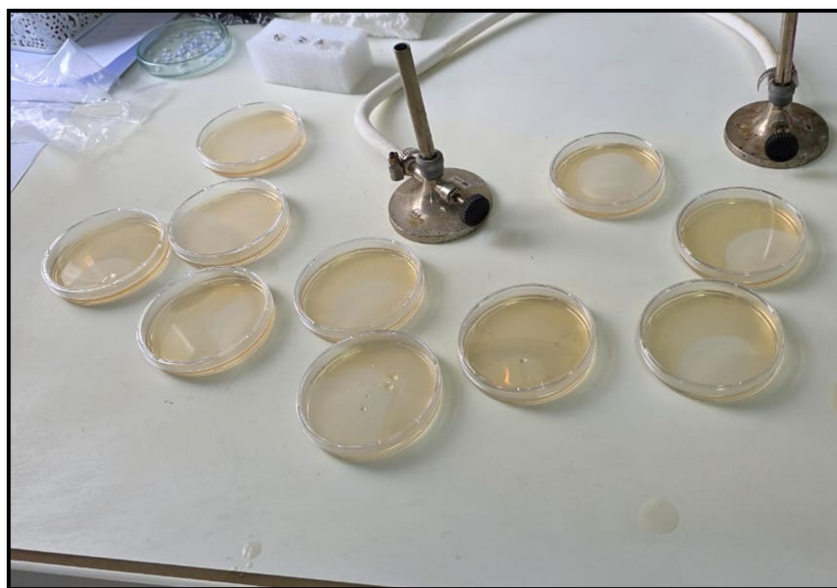


Figure 09 : Méthode de diffusion sur disque

▪ Préparation de l'inoculum

Les souches microbiennes conservées sur milieu gélosé ont été revivifiées dans un bouillon nutritif puis incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 30 °C pendant 24 à 48 h pour *Candida albicans*. La densité cellulaire a été ajustée au standard 0,5 de McFarland afin d'obtenir une suspension microbienne standardisée.

▪ Méthode de diffusion sur disque

L'activité antibactérienne et antifongique a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme). Cette méthode repose sur la diffusion des composés bioactifs dans un milieu gélosé préalablementensemencé avec les microorganismes testés.

Le milieu Mueller-Hinton a été utilisé pour les bactéries tandis que le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été utilisé pour *Candida albicans*. Après ensemencement de la surface des boîtes de Pétri à l'aide d'un écouvillon stérile, des disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre ont été déposés à la surface de la gélose.

Chaque disque a été imprégné d'une quantité déterminée des différents extraits testés (extrait aqueux, extrait éthanolique, extrait hexanique, huile totale et huile essentielle). Les boîtes ont

ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 30 °C pendant 72 h pour *Candida albicans*.

Après incubation, l'activité antimicrobienne a été évaluée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition exprimés en millimètres (mm).

3.2. Activité antioxydante

▪ Principe de la méthode DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* a été déterminée par la méthode du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Cette méthode est basée sur la capacité des composés antioxydants à réduire le radical DPPH, entraînant une diminution de l'intensité de sa coloration violette.

▪ Protocole expérimental

Différentes concentrations des extraits ont été préparées puis mélangées à une solution méthanolique de DPPH. Après incubation à l'abri de la lumière pendant une durée déterminée, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence (témoin positif).

▪ Calcul du pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition \%} = \frac{DO \text{ contrôle} - DO \text{ échantillon}}{DO \text{ controle}} \times 100$$

La concentration inhibitrice à 50 % (IC50) a ensuite été déterminée à partir de la courbe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait.

Résultats et Discussions

Chapitre 05: Résultats et discussion

1. Rendement des extraits végétaux

Les résultats montrent que le rendement d'extraction varie selon la méthode d'extraction et le solvant utilisé. L'huile essentielle a présenté le rendement le plus élevé (21,125 %), suivie de l'extrait aqueux (18,40 %), tandis que l'huile totale, l'extrait éthanolique et l'extrait hexanique ont donné des rendements plus faibles (**Figure 10**).

Les différences observées entre les rendements peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment la nature du solvant, sa polarité, son pouvoir de pénétration dans les tissus végétaux ainsi que la solubilité des métabolites présents dans la plante. Les solvants polaires favorisent généralement l'extraction des composés hydrophiles, alors que les solvants apolaires permettent principalement l'extraction des composés lipophiles (**Azwanida, 2015 ; Do et al., 2014**).

Le rendement relativement élevé de l'extrait aqueux indique que la plante contient une proportion importante de composés extractibles dans l'eau. À l'inverse, les faibles rendements obtenus avec l'hexane et l'éthanol suggèrent que les composés solubles dans ces solvants sont présents en quantité plus limitée ou que les conditions d'extraction utilisées ont influencé leur récupération (Tableau II).

Les variations de rendement rapportées dans la littérature pour *Rosmarinus officinalis* sont fréquentes et dépendent de nombreux paramètres, notamment l'origine géographique de la plante, le stade de développement, les conditions de séchage, la granulométrie de l'échantillon, la méthode d'extraction, le rapport solvant/matière végétale ainsi que la durée et la température d'extraction (**Boukhatem et al., 2014 ; Boutekedjiret et al., 2003 ; Azwanida, 2015**).

Ainsi, les différences observées dans cette étude restent cohérentes avec les données de la littérature et soulignent l'influence des conditions expérimentales sur le rendement des différents extraits.

Tableau II : Rendement des extraits végétaux

Extraits	Masse de matière végétale (g)	Rendement (%)
Extrait aqueux	50	18,40
Extrait d'hexane	40	3,10
Extrait d'éthanol	40	3,275
Huile totale	40	3,925
Huile essentiel	40	21.125

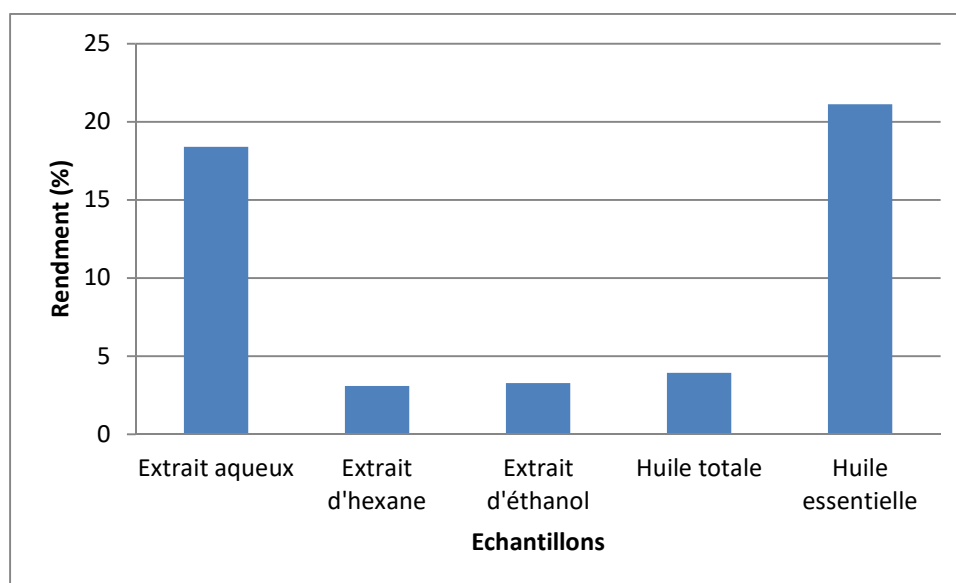


Figure 10: Les rendements (%) obtenus à partir des différents extraits de la matière végétale.

2. Activités biologiques

2.1. Évaluation de l'activité antioxydant

▪ Activité antioxydante de l'extrait aqueux

La Figure 11 illustre l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis*. Les résultats montrent une augmentation progressive de l'activité antioxydante avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Cette évolution traduit une relation dose-effet, indiquant que plus la concentration en composés bioactifs est élevée, plus le nombre de radicaux libres neutralisés augmente. À partir de la courbe de régression, la valeur de l'IC₅₀ a été estimée à 0,9496 mg/mL.

Cette activité antioxydante s'explique principalement par la richesse de l'extrait aqueux en composés phénoliques hydrosolubles. En effet, l'eau est un solvant polaire capable d'extraire

efficacement des molécules telles que l'acide rosmarinique, certains flavonoïdes et divers acides phénoliques. Ces composés possèdent plusieurs groupements hydroxyles capables de céder un électron ou un atome d'hydrogène aux radicaux libres, interrompant ainsi les réactions d'oxydation en chaîne et limitant la formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Apak et al., 2016).

L'activité observée reste toutefois légèrement inférieure à celle de l'extrait éthanolique. Cette différence peut être expliquée par le fait que l'eau extrait également des composés non phénoliques (sucres, protéines, polysaccharides et autres substances hydrophiles) qui ne participent pas directement à l'activité antioxydante. La présence de ces composés peut entraîner une dilution relative des molécules fortement antioxydantes dans l'extrait (Do et al., 2014).

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par Borrás-Linares et al. (2014), qui ont montré que le romarin contient une quantité importante de composés phénoliques hydrosolubles responsables d'une activité antioxydante élevée (Figure 11).

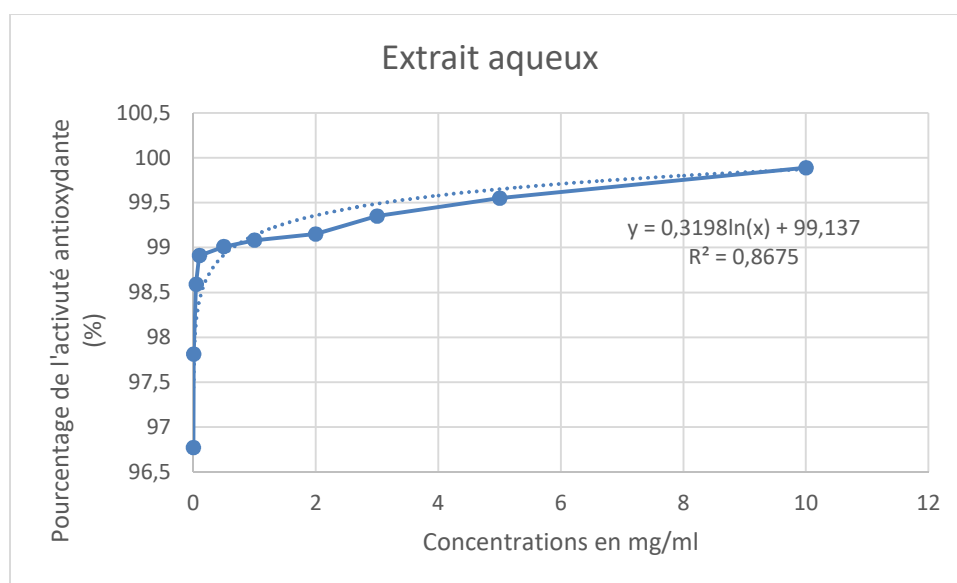


Figure 11: Variation du pourcentage de l'activité antioxydante en fonction de la concentration d'Extrait aqueux.

▪ Activité antioxydante de l'extrait hexanique

La Figure 12 montre que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente progressivement lorsque la concentration de l'extrait hexanique augmente. À partir de la courbe de régression, la valeur de l'IC₅₀ a été estimée à 5,1984 mg/mL, ce qui traduit une activité antioxydante nettement plus faible que celle des extraits aqueux et éthanoliques.

Cette faible activité est principalement liée aux propriétés physicochimiques de l'hexane. En tant que solvant apolaire, l'hexane extrait préférentiellement les composés lipophiles tels que les hydrocarbures, certains terpènes, les cires et les pigments. Or, ces molécules possèdent généralement une capacité de réduction des radicaux libres plus faible que les composés phénoliques (Azwanida, 2015).

Les principaux antioxydants du romarin, notamment l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol, présentent une polarité relativement élevée et sont donc peu solubles dans l'hexane. Leur faible extraction explique la valeur élevée d'IC₅₀ observée dans cette étude. Des résultats similaires ont été rapportés par Do et al. (2014), qui ont montré que les solvants non polaires présentent généralement les plus faibles rendements d'extraction des polyphénols et les activités antioxydantes les moins importantes (Figure 12).

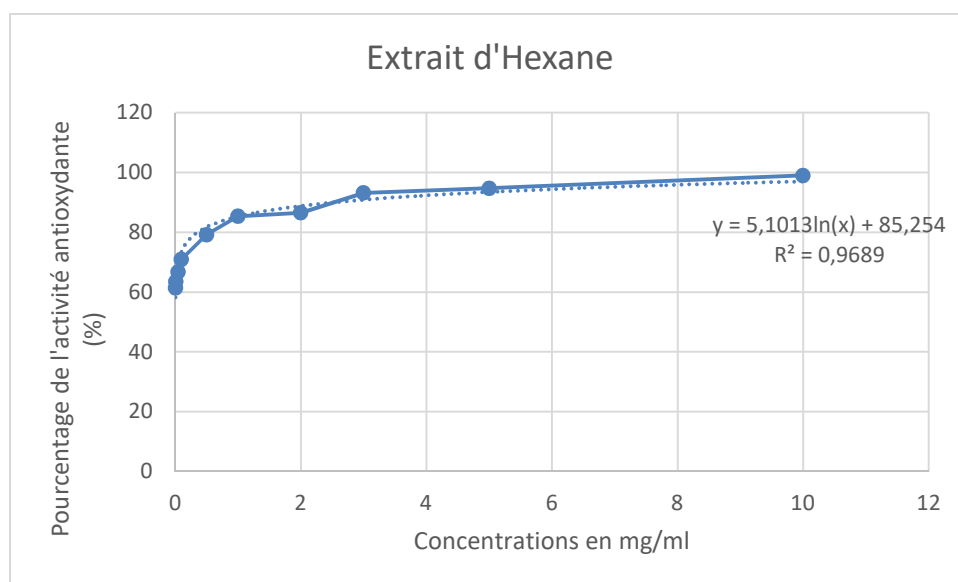


Figure 12: Variation du pourcentage de l'activité antioxydante en fonction de la concentration d'Extrait d'Hexane.

▪ Activité antioxydante de l'extrait d'Éthanol

La Figure 13 montre que l'activité antioxydante augmente régulièrement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait éthanolique. La valeur de l'IC₅₀ déterminée à partir de la courbe est de 0,6566 mg/mL, indiquant une activité antioxydante très élevée.

L'éthanol est reconnu comme l'un des solvants les plus efficaces pour extraire les composés phénoliques des plantes aromatiques. Grâce à sa polarité intermédiaire, il permet la solubilisation simultanée de molécules hydrophiles et légèrement lipophiles, notamment les

flavonoïdes, l'acide rosmarinique, l'acide carnosique et le carnosol. Ces molécules sont considérées comme les principaux responsables de l'activité antioxydante du romarin (Borrás-Linares et al., 2014).

Le mécanisme antioxydant de ces composés repose principalement sur leur capacité à céder un électron ou un atome d'hydrogène aux radicaux DPPH, conduisant à leur réduction et à la stabilisation des espèces radicalaires. Ils peuvent également chélater certains ions métalliques pro-oxydants et limiter la propagation des réactions d'oxydation (Apak et al., 2016).

La faible valeur d'IC₅₀ obtenue confirme que l'extrait éthanolique possède la meilleure efficacité antioxydante parmi les extraits étudiés, ce qui est en accord avec les travaux de Genena et al. (2008), qui ont également observé une activité antioxydante élevée des extraits éthanoliques de *Rosmarinus officinalis* (Figure 13).

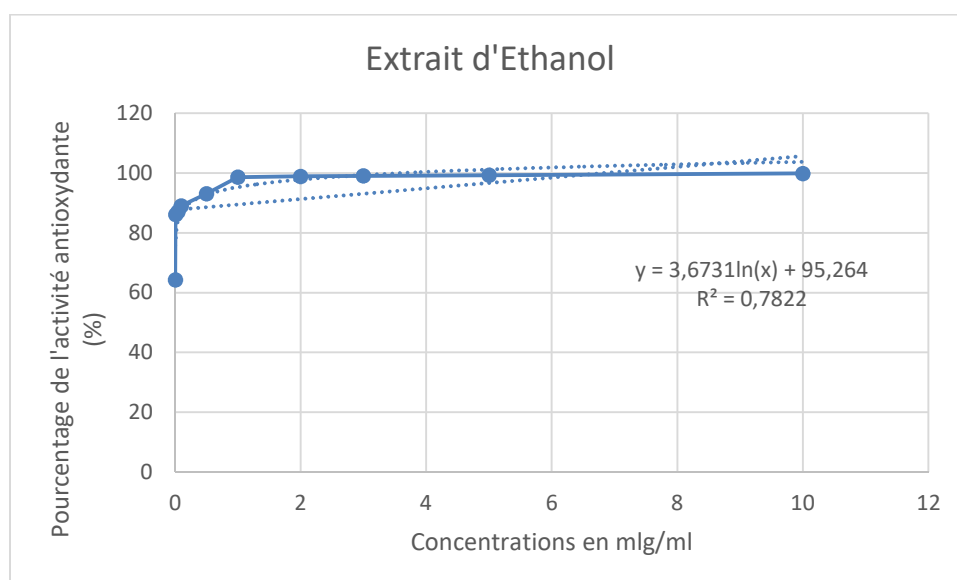


Figure 13: Variation du pourcentage de l'activité antioxydante en fonction de la concentration d'Extrait d'Éthanol.

▪ Activité antioxydante de l'extrait d'huile totale

La Figure 14 montre que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente progressivement avec l'augmentation de la concentration de l'huile totale, ce qui traduit une relation dose-effet entre la concentration de l'extrait et son pouvoir antioxydant. À partir de la courbe de régression, la valeur de l'IC₅₀ a été estimée à 0,7395 mg/mL, indiquant une activité antioxydante élevée, bien que légèrement inférieure à celle de l'extrait éthanolique.

Cette activité peut être attribuée à la présence de composés lipophiles bioactifs naturellement abondants dans *Rosmarinus officinalis*, notamment les diterpènes phénoliques tels que l'acide carnosique et le carnosol. Ces composés sont considérés comme les principaux antioxydants liposolubles du romarin et interviennent en interrompant les réactions radicalaires par donation d'un électron ou d'un atome d'hydrogène aux espèces réactives de l'oxygène. Ils sont également capables de limiter la peroxydation lipidique en protégeant les membranes biologiques et les acides gras insaturés contre les dommages oxydatifs (**Borrás-Linares et al., 2014 ; Nieto et al., 2018**).

L'activité élevée observée suggère que le procédé d'extraction utilisé a permis de préserver une proportion importante de ces diterpènes antioxydants. Toutefois, l'IC50 reste légèrement supérieure à celle de l'extrait éthanolique. Cette différence peut s'expliquer par le fait que l'éthanol extrait simultanément les composés lipophiles et une grande partie des composés phénoliques polaires, notamment l'acide rosmarinique et certains flavonoïdes, ce qui confère à l'extrait éthanolique une activité antioxydante plus importante (**Do et al., 2014**).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Borrás-Linares et al. (2014)**, qui ont montré que les fractions lipidiques du romarin possèdent une activité antioxydante élevée grâce à leur richesse en acide carnosique et en carnosol, deux molécules largement reconnues pour leur efficacité dans la neutralisation des radicaux libres (Figure 14).

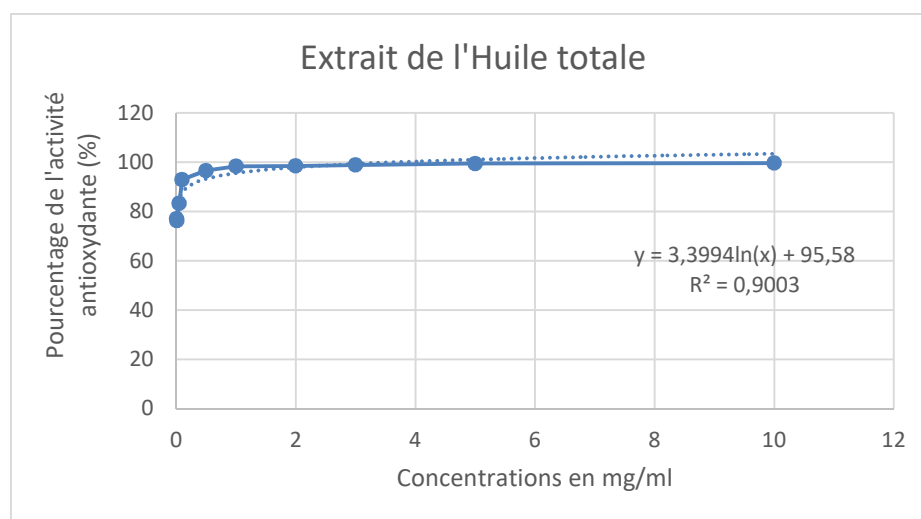


Figure 14 : Variation du pourcentage de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'Huile totale.

■ Activité antioxydante de l'huile essentielle

La Figure 15 montre une augmentation du pourcentage d'inhibition avec l'augmentation de la concentration. La valeur de l'IC50 obtenue est de 15,9682 mg/mL, ce qui correspond à la plus faible activité antioxydante parmi les extraits étudiés.(Figure 15)

L'huile essentielle est principalement constituée de composés volatils tels que le 1,8-cinéole, l' α -pinène, le camphre, le bornéol et le β -pinène. Bien que certains de ces terpènes présentent une activité antioxydante, leur pouvoir réducteur reste généralement inférieur à celui des polyphénols présents dans les extraits polaires (**Viuda-Martos et al., 2010**).

La faible activité observée peut également être attribuée à la quasi-absence d'acide rosmarinique, d'acide carnosique et de carnosol dans la fraction volatile, ces molécules étant peu entraînées lors de l'hydrodistillation en raison de leur faible volatilité (**Borrás-Linares et al., 2014**).

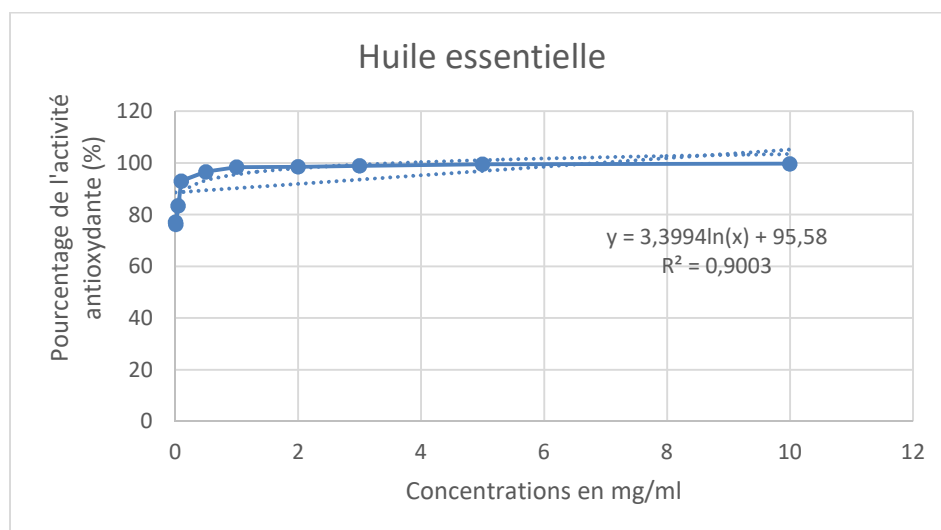


Figure 15 : Variation du pourcentage de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'Huile essentielle.

▪ Activité antioxydante de l'acide ascorbique (Témoin)

La Figure 16 illustre l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique. Les résultats montrent une augmentation rapide de l'activité antioxydante dès les plus faibles concentrations, le pourcentage d'inhibition passant d'environ 60 % à près de 100 % à partir de 2 mg/mL. Au-delà de cette concentration, l'activité se stabilise, traduisant une saturation progressive de la capacité de piégeage des radicaux libres.

À partir de la courbe de régression, la valeur de l'IC₅₀ a été estimée à 0,3349 mg/mL, ce qui confirme le très fort pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique. Une faible valeur d'IC₅₀ signifie qu'une faible concentration du composé est suffisante pour neutraliser 50 % des radicaux DPPH, ce qui témoigne de son efficacité élevée (**Apak et al., 2016**).

L'activité antioxydante remarquable de l'acide ascorbique est directement liée à sa structure chimique, caractérisée par la présence d'un système énediol capable de céder facilement des électrons ou des atomes d'hydrogène aux espèces radicalaires. Cette propriété lui permet de réduire efficacement le radical DPPH en une forme stable, interrompant ainsi les réactions d'oxydation en chaîne. En outre, l'acide ascorbique participe à la régénération d'autres antioxydants endogènes, notamment la vitamine E, renforçant ainsi les mécanismes de défense contre le stress oxydatif (**Padayatty et al., 2003 ; Apak et al., 2016**).

En raison de cette forte capacité réductrice, l'acide ascorbique est largement utilisé comme antioxydant de référence dans les essais d'évaluation de l'activité antioxydante des extraits végétaux, notamment dans le test au DPPH. Son utilisation comme témoin permet d'établir une base de comparaison fiable pour apprécier l'efficacité des extraits étudiés (**Brand-Williams et al., 1995 ; Apak et al., 2016**).

Dans la présente étude, la valeur d'IC₅₀ obtenue pour l'acide ascorbique est inférieure à celles de tous les extraits de *Rosmarinus officinalis*, ce qui confirme sa supériorité en termes de pouvoir antioxydant. Toutefois, l'extrait éthanolique présente une activité relativement proche de celle du témoin, suggérant qu'il renferme une quantité importante de composés phénoliques capables d'exercer une activité antioxydante significative. Cette observation est en accord avec plusieurs études montrant que les extraits riches en polyphénols peuvent développer une activité antioxydante comparable à celle de certains antioxydants de référence, bien qu'ils soient constitués d'un mélange complexe de molécules bioactives (Borrás-Linares et al., 2014 ; Nieto et al., 2018). (Figure 16)

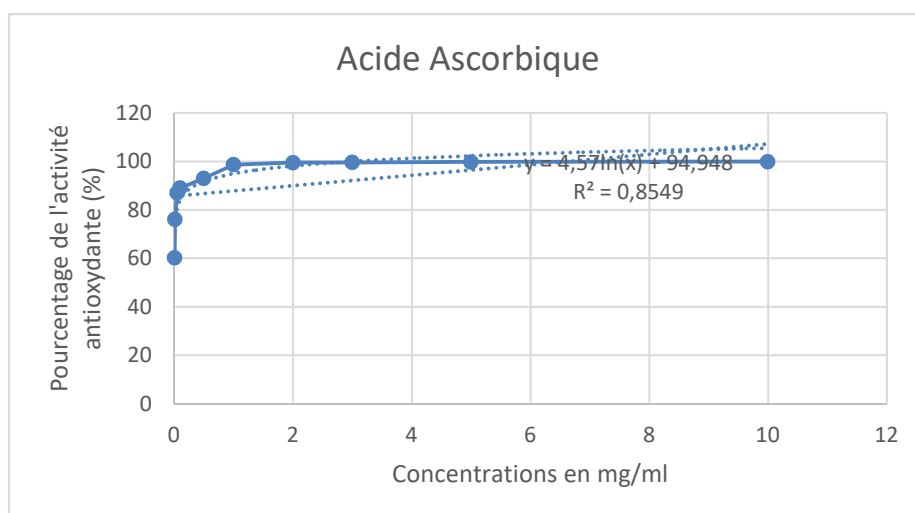


Figure 16: Variation du pourcentage de l'activité antioxydante en fonction de la concentration d'acide Ascorbique.

▪ Comparaison de l'activité antioxydante à partir des valeurs d'IC50

L'IC50 (Concentration Inhibitrice 50 %) correspond à la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres DPPH. Elle constitue un indicateur de l'efficacité antioxydante des extraits. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est élevée, traduisant une meilleure capacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres.

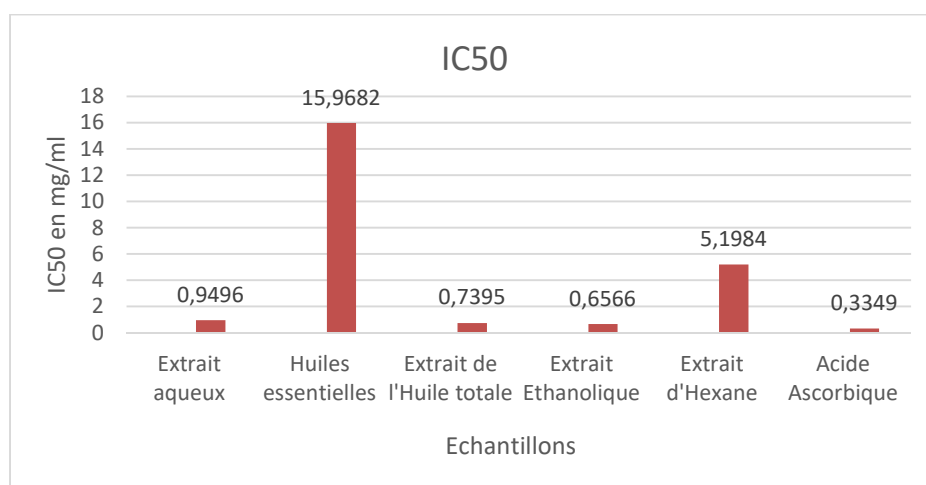


Figure 17: Variation du pourcentage de Concentration Inhibitrice 50 % en fonction des extraits.

Les valeurs d'IC₅₀ obtenues pour les différents extraits de *Rosmarinus officinalis* ainsi que pour l'acide ascorbique sont présentées dans la Figure 00. Les résultats montrent des différences importantes entre les échantillons étudiés.

L'acide ascorbique a présenté la valeur d'IC₅₀ la plus faible (0,3349 mg/ml), suivi de l'extrait éthanolique (0,6566 mg/ml), de l'extrait d'huile totale (0,7395 mg/ml) et de l'extrait aqueux (0,9496 mg/ml). En revanche, l'extrait hexanique (5,1984 mg/ml) et l'huile essentielle (15,9682 mg/ml) ont enregistré les valeurs les plus élevées.

Dans autre part, l'analyse des courbes de pourcentage d'inhibition montre que l'activité antioxydante augmente avec l'augmentation de la concentration pour l'ensemble des extraits étudiés. Cette augmentation est particulièrement marquée pour les extraits aqueux, éthanolique et l'extrait d'huile totale, qui atteignent rapidement des pourcentages d'inhibition élevés. Les extraits hexanique et l'huile essentielle présentent également une augmentation de l'activité avec la concentration, mais de manière moins efficace.

Les différences observées dans les valeurs IC₅₀ s'expliquent par la capacité variable des solvants à extraire les composés bioactifs. L'extrait éthanolique a présenté l'activité antioxydante la plus élevée, attribuée à sa richesse en polyphénols, notamment en acide rosmarinique, ainsi qu'en acide carnosique et en carnosol. Ces composés possèdent une forte capacité à inhiber les radicaux libres grâce à des mécanismes de réduction efficaces (**Do et al., 2014 ; Azwanida, 2015**).

La comparaison des résultats avec ceux obtenus avec l'acide ascorbique, utilisé comme référence, montre que l'activité de certains extraits, en particulier l'extrait éthanolique, est proche de celle de l'acide ascorbique. Ceci reflète la forte activité réductrice des composés phénoliques de cette plante (**Apak et al., 2016 ; Borrás-Linares et al., 2014 ; Nieto et al., 2018**).

L'extrait huileux total a également montré une activité considérable, suivi de l'extrait aqueux qui, malgré son rendement élevé, a présenté une activité plus faible en raison de sa composition, mêlant composés actifs et inactifs. En revanche, l'extrait hexanique a montré une faible activité du fait de sa nature non polaire, tandis que l'huile essentielle a présenté l'activité antioxydante la plus faible en raison de la prédominance de composés volatils moins puissants que les polyphénols (**Borrás-Linares et al., 2014 ; Nieto et al., 2018**).

Globalement, les résultats confirment une relation claire entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante, avec une différence d'intensité par rapport à l'acide ascorbique, la norme de référence.

2.2. Activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 10231 a révélé des différences notables selon la nature de l'extrait utilisé (Figure 18).

L'huile essentielle a présenté la plus forte activité avec un diamètre d'inhibition de 20 mm. Selon le critère de *Rossi et al. (2007)*, les extraits produisant une zone d'inhibition supérieure ou égale à 15 mm sont considérés comme actifs. Ainsi, l'huile essentielle peut être classée parmi les extraits fortement actifs contre *C. albicans*.

L'huile totale et l'extrait éthanolique ont montré une activité comparable avec des diamètres d'inhibition de 15 mm, atteignant le seuil d'activité défini par ce même auteur. L'extrait hexanique a présenté une activité légèrement plus faible (14 mm), tandis que l'extrait aqueux n'a montré aucun effet inhibiteur.

L'ordre décroissant de l'activité antifongique observé est le suivant :

Huile essentielle (20 mm) > Huile totale (15 mm) = Extrait éthanolique (15 mm) > Extrait hexanique (14 mm) > Extrait aqueux (0 mm).

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Pintore et al. (2002)** et **Bozin et al. (2007)**, qui ont rapporté une forte activité antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* contre *Candida albicans*. Cette activité est généralement attribuée à la présence de composés terpéniques tels que le 1,8-cinéole, le camphre, l' α -pinène et le bornéol, connus pour leur capacité à altérer l'intégrité de la membrane cellulaire des levures et à perturber leurs fonctions physiologiques.

L'absence d'activité observée pour l'extrait aqueux suggère que les substances responsables de l'effet antifongique sont principalement de nature lipophile et sont donc mieux extraites par les solvants organiques ou concentrées dans l'huile essentielle. Cette observation rejoint les

résultats rapportés par **Celiktas et al. (2007)**, qui ont montré que les extraits organiques de *R. officinalis* possèdent généralement une activité supérieure à celle des extraits aqueux.

Cependant, certaines études ont rapporté des niveaux d'activité différents de ceux obtenus dans notre travail. Ces variations peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique de la plante, les conditions climatiques, la période de récolte, le stade de développement végétatif, la méthode d'extraction utilisée ainsi que les différences de composition chimique des huiles essentielles. Selon **Angioni et al. (2004)**, les proportions des principaux constituants du romarin peuvent varier considérablement d'une région à une autre, influençant directement l'intensité de l'activité antifongique observée.

Par ailleurs, les différences de sensibilité de *Candida albicans* peuvent être liées à la souche utilisée, certaines souches présentant une capacité plus élevée d'adaptation ou de formation de biofilm, ce qui peut modifier leur réponse aux extraits végétaux (**Ramage et al., 2005**).

Dans l'ensemble, les résultats obtenus confirment que l'huile essentielle constitue la fraction la plus efficace de *Rosmarinus officinalis* contre *Candida albicans* ATCC 10231, soulignant l'importance des composés volatils dans l'activité antifongique de cette plante.

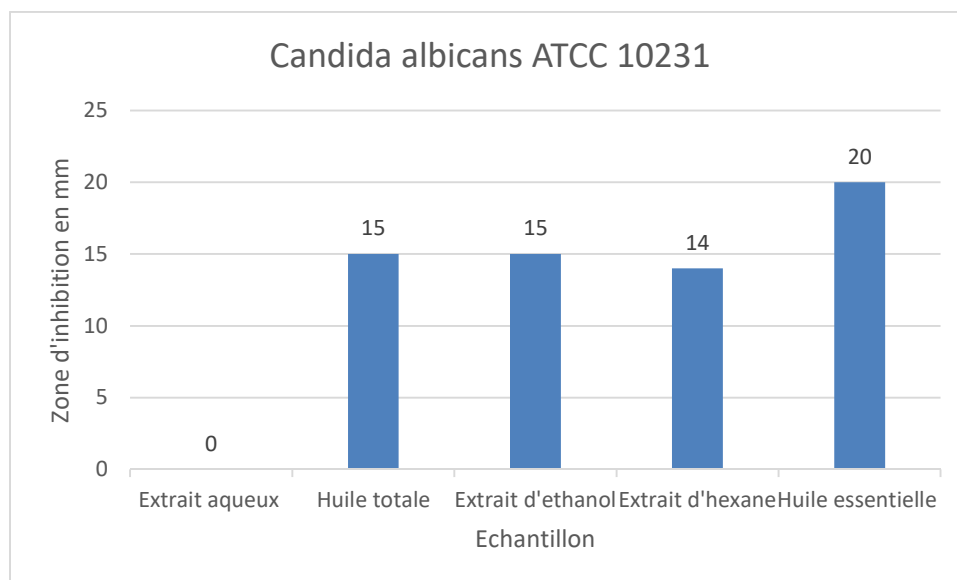


Figure 18: Activité antifongique des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* contre *Candida albicans* ATCC 10231.

2.3. Activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* montrent des niveaux d'inhibition variables selon la souche bactérienne et la nature de l'extrait utilisé (Figure 20).

L'extrait aqueux n'a présenté aucune activité antibactérienne contre l'ensemble des souches testées, avec un diamètre d'inhibition nul (0 mm)

L'huile essentielle a montré l'activité la plus élevée avec des diamètres d'inhibition compris entre 15 et 25 mm. La plus forte inhibition a été observée contre *Bacillus cereus* ATCC 11778 (25 mm), suivie de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (20 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (18 mm) et *Escherichia coli* ATCC 25922 (15 mm).

L'huile totale a également présenté une activité importante contre toutes les souches testées, avec des diamètres variants entre 15 et 20 mm. Le diamètre le plus élevé a été enregistré contre *Escherichia coli* (20 mm).

L'extrait éthanolique a montré une activité modérée avec des diamètres compris entre 14 et 18 mm, la souche la plus sensible étant *Bacillus cereus* (18 mm).

L'extrait hexanique a présenté l'activité la plus faible parmi les extraits organiques, avec des diamètres variants entre 10 et 15 mm.

D'une manière générale, l'ordre d'efficacité des extraits est le suivant:

Huile essentielle > Huile totale > Extrait éthanolique > Extrait hexanique > Extrait aqueux.

Les résultats montrent également que *Bacillus cereus* est la bactérie la plus sensible aux extraits étudiés, tandis qu'*Escherichia coli* apparaît globalement comme la moins sensible.

Les résultats obtenus confirment le potentiel antibactérien de *Rosmarinus officinalis*, dont l'intensité varie selon le type d'extrait utilisé et la souche bactérienne étudiée. L'huile essentielle a présenté les diamètres d'inhibition les plus élevés, ce qui suggère que les composés responsables de l'activité antibactérienne sont principalement concentrés dans la fraction volatile de la plante. Cette observation est en accord avec les travaux de **Nieto et al. (2018)** et **Hussain et al. (2010)**, qui ont rapporté une activité importante de l'huile essentielle de romarin contre plusieurs bactéries pathogènes grâce à sa richesse en monoterpènes tels que le 1,8-cinéole, le camphre, l' α -pinène et le bornéol.

L'absence totale d'activité de l'extrait aqueux observée dans notre étude suggère que les molécules responsables de l'effet antibactérien sont essentiellement de nature lipophile. Cette hypothèse est soutenue par **Celiktas et al. (2007)**, qui ont montré que les extraits obtenus avec des solvants organiques présentent généralement une activité supérieure à celle des extraits aqueux en raison d'une meilleure extraction des composés bioactifs.

Les bactéries Gram positif, notamment *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, se sont révélées globalement plus sensibles que les bactéries Gram négatif. Cette différence est généralement attribuée à la présence d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides chez les bactéries Gram négatif, limitant la pénétration des substances actives (**Gutiérrez-Del-Río et al., 2021**). Toutefois, *Escherichia coli* a montré une sensibilité notable, particulièrement vis-à-vis de l'huile totale (20 mm), indiquant que certains constituants du romarin sont capables de franchir cette barrière et d'exercer une activité inhibitrice importante. Des résultats similaires ont été rapportés par **Hussain et al. (2010)**.

Les différences observées entre notre étude et certaines données de la littérature peuvent être attribuées à plusieurs facteurs influençant la composition chimique de la plante, notamment l'origine géographique, les conditions climatiques, la nature du sol, la période de récolte, les conditions de séchage et de stockage ainsi que la méthode d'extraction utilisée (**Angioni et al., 2004**). La provenance du matériel végétal peut également jouer un rôle important, une plante récoltée directement dans son milieu naturel pouvant présenter un profil chimique différent de celui d'une plante commercialisée après stockage. De même, la teneur en composés bioactifs varie selon l'organe végétal étudié ; les feuilles étant généralement plus riches en huiles essentielles et en composés phénoliques que les tiges ou les racines, ce qui peut influencer l'activité antibactérienne observée.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus confirment que l'activité antibactérienne de *Rosmarinus officinalis* est principalement liée à ses composés lipophiles et volatils. L'efficacité particulièrement élevée de l'huile essentielle suggère également l'existence d'un effet synergique entre ses différents constituants, renforçant ainsi son potentiel comme source naturelle d'agents antibactériens.

Les résultats obtenus montrent que les activités biologiques de *Rosmarinus officinalis* varient selon le type d'extrait utilisé. L'extrait éthanolique a présenté la meilleure activité antioxydante, tandis que l'huile essentielle s'est révélé la plus efficace contre *Candida albicans* ainsi que contre les bactéries testées. En revanche, l'extrait aqueux, malgré son

rendement d'extraction élevé, n'a montré aucune activité antimicrobienne. Ces différences peuvent être attribuées à la nature chimique des composés extraits par chaque solvant. En effet, les composés phénoliques extraits par les solvants polaires sont généralement associés à l'activité antioxydante, alors que les composés volatils présents dans l'huile essentielle sont davantage impliqués dans les activités antifongique et antibactérienne. Les variations observées peuvent également être influencées par plusieurs facteurs tels que l'origine de la plante, les conditions de culture et de récolte, la partie végétale utilisée ainsi que la méthode d'extraction.

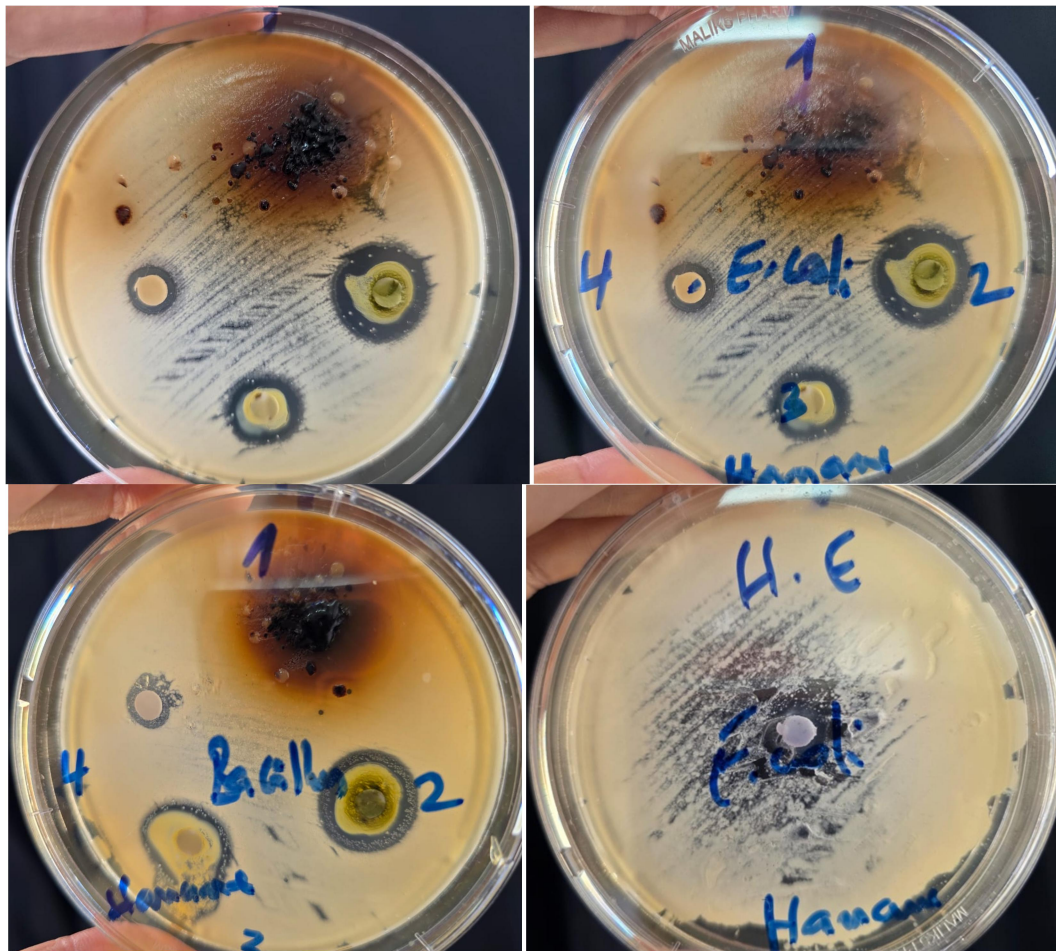


Figure 19: Zones d'inhibition obtenues avec les différents extraits de *Rosmarinus officinalis* contre les souches bactériennes testées par la méthode de diffusion sur gélose.

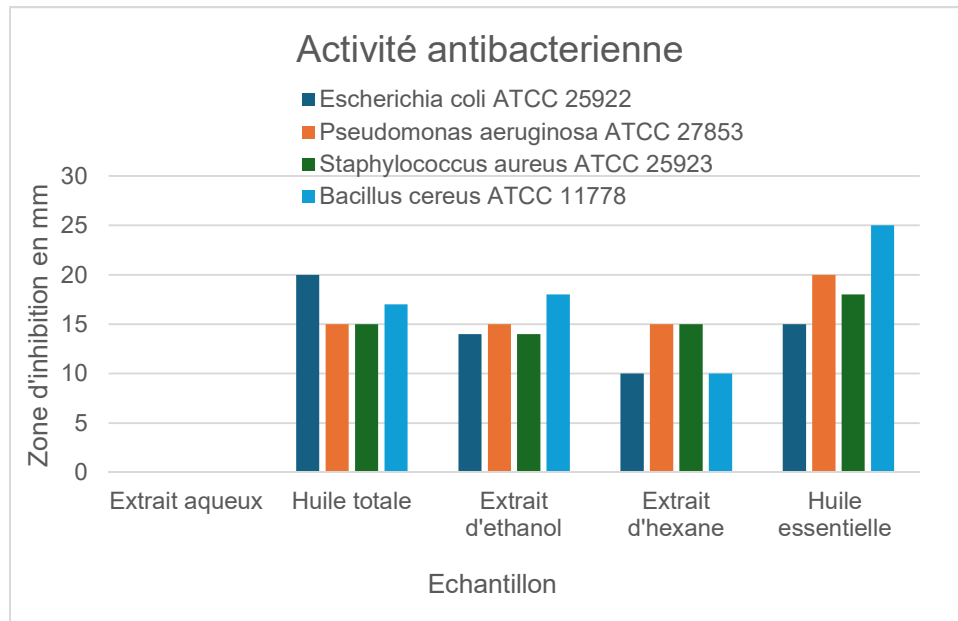


Figure 20: Activité antibactérienne des différents extraits de *Rosmarinus officinalis* contre les souches bactériennes testées.

Conclusion

Conclusion

Le présent travail a permis de mettre en évidence l'intérêt biologique de *Rosmarinus officinalis* L., une plante aromatique largement utilisée dans la pharmacopée traditionnelle mais dont le potentiel reste encore insuffisamment valorisé. Les résultats obtenus ont montré que la nature du solvant d'extraction influence considérablement le rendement ainsi que les activités biologiques des extraits.

L'étude de l'activité antioxydante a révélé une efficacité remarquable de l'extrait éthanolique, traduisant sa richesse en composés phénoliques capables de neutraliser les radicaux libres. Par ailleurs, l'huile essentielle s'est distinguée par une activité antifongique et antibactérienne importante, notamment contre *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats confirment que les molécules bioactives du romarin constituent une source naturelle prometteuse pour la lutte contre le stress oxydatif et certains microorganismes pathogènes.

Au-delà des données expérimentales, cette étude rappelle l'importance de la biodiversité végétale locale comme réservoir de substances naturelles d'intérêt thérapeutique. Dans un contexte marqué par l'augmentation des résistances microbiennes et la recherche de solutions plus sûres et durables, les plantes médicinales telles que *Rosmarinus officinalis* représentent une alternative particulièrement intéressante.

Cependant, les activités observées in vitro ne constituent qu'une première étape dans la valorisation de cette espèce. Des investigations complémentaires sont nécessaires afin d'identifier précisément les molécules responsables des effets biologiques observés, de comprendre leurs mécanismes d'action et d'évaluer leur innocuité ainsi que leur efficacité in vivo.

Perspectives

Les perspectives de ce travail pourraient s'orienter vers :

- L'identification et la caractérisation des composés bioactifs majeurs par des techniques chromatographiques et spectrométriques ;
- L'évaluation de l'activité biologique d'autres organes de la plante (tiges, fleurs ou racines) afin de comparer leur potentiel thérapeutique ;

- L'étude de l'influence de l'origine géographique, des conditions de récolte et du stade phénologique sur la composition chimique et les activités biologiques du romarin ;
- La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides/fongicides des extraits les plus actifs ;
- La réalisation d'études in vivo permettant de confirmer les résultats obtenus in vitro ;
- Le développement éventuel de formulations naturelles à base de romarin destinées aux domaines pharmaceutique, alimentaire ou cosmétique.

Ainsi, *Rosmarinus officinalis* apparaît non seulement comme une plante emblématique du patrimoine méditerranéen, mais également comme une ressource naturelle à fort potentiel pour les recherches futures et les applications biotechnologiques.

Liste des références bibliographique

1. Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Science OA*, 4(4), FSO283.
2. Andrade, J. M., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2022). Bioactive compounds and pharmacological properties of *Salvia rosmarinus*. *Plants*, 11(8), 1015.
3. Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027.
4. Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods used in medicinal plants: Principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 196.
5. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
6. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
7. Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2015). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications* (2nd ed.). CRC Press.
8. Benabid, A. (2019). *Flore et écosystèmes du Maghreb*. Ibis Press.
9. Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J. M., Bernardini, A. F., & Costa, J. (2022). Chemical composition and biological activities of rosemary from Algeria. *Natural Product Research*, 36(5), 1248–1256.
10. Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.
11. Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2019). *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action. *Molecules*, 24(18), 3286.
12. Borrás-Linares, I., Stojanović, Z., Quirantes-Piné, R., Arráez-Román, D., Švarc-Gajić, J., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2014). *Rosmarinus officinalis* leaves as a natural source of bioactive compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20585–20606. <https://doi.org/10.3390/ijms151120585>

13. Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481–484.
14. 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.
15. Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
16. Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2017). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 708.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts* (CLSI Standard M60, 2nd ed.). CLSI.
18. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
19. Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities. *Medicines*, 3(4), 25.
20. Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Al-Mana, F. A., Mahmoud, E. A., Zin El-Abedin, T. K., & Ekiert, H. (2022). Rosemary (*Salvia rosmarinus*): A review of phytochemistry and biological activities. *Plants*, 11(23), 3361.
21. Elshafie, H. S., Camele, I., & Caputo, L. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of rosemary essential oil chemotypes. *Chemistry & Biodiversity*, 12(5), 680–689.
22. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. (2022). *European Pharmacopoeia* (11th ed.). EDQM.
23. Evans, W. C. (2020). *Trease and Evans' Pharmacognosy* (17th ed.). Elsevier.
24. FAO. (2018). *The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture*. FAO.
25. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., & Rahmat, A. (2016). Variation of phytochemical constituents and antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis*. *Molecules*, 21(4), 499.
26. Hamidpour, R., Hamidpour, M., Hamidpour, S., & Shahlari, M. (2017). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): A novel therapeutic agent for antioxidant, antimicrobial, anticancer and neuroprotective effects. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(1), 98–105.
27. Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2006). Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food by-products, algae and microalgae. *Food Chemistry*, 98(1), 136–148.

28. Kadri, A., Zarai, Z., Ben Chobba, I., Gharsallah, N., Damak, M., & Gdoura, R. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of rosemary essential oil from Tunisia. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(34), 7562–7566.
29. Masango, P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 833–839.
30. Mulas, M., & Cani, M. R. (2010). *Medicinal and aromatic plants of the Mediterranean region*. ISHS.
31. Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474.
32. Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): A review. *Medicines*, 5(3), 98.
<https://doi.org/10.3390/medicines5030098>
33. Pérez-Sánchez, A., Barrajón-Catalán, E., Herranz-López, M., & Micol, V. (2019). Nutraceuticals for skin care: The role of rosemary. *Nutrients*, 11(9), 2103.
34. Peter, K. V. (2023). *Handbook of herbs and spices* (3rd ed.). Woodhead Publishing.
35. Pinto, E., Vale-Silva, L., Cavaleiro, C., & Salgueiro, L. (2009). Antifungal activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Medical Microbiology*, 58(11), 1454–1462.
36. Quézel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Vols. 1–2). CNRS.
37. Rai, M., & Mérillon, J. M. (Eds.). (2020). *Medicinal plants: Bioactive compounds and therapeutic applications*. Springer.
38. Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S., & Mikov, M. (2014). Antioxidant activity of rosemary essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 225.
39. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
40. Ribeiro-Santos, R., Carvalho-Costa, D., Cavaleiro, C., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Castilho, M. C., Ramos, F., Melo, N. R., & Sanches-Silva, A. (2015). A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 355–368.
41. Royal Botanic Gardens, Kew. (2025). *Salvia rosmarinus*. *Plants of the World Online*. Consulté le 28 juin 2026.

Références Bibliographiques

42. Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., ... & Martorell, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules*, 22(1), 70.
43. Wikimedia Commons. (s.d.). *Salvia rosmarinus* (Rosemary). Consulté le 28 juin 2026.
44. Yesil-Celiktas, O., Sevimli, C., Bedir, E., & Vardar-Sukan, F. (2010). Inhibitory effects of rosemary extracts on inflammatory mediators. *Food Chemistry*, 122(4), 1098–1105.

Résumé

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une plante aromatique et médicinale largement reconnue pour sa richesse en composés bioactifs, notamment les huiles essentielles, les polyphénols et les flavonoïdes, auxquels sont attribuées de nombreuses propriétés biologiques. La présente étude a pour objectif d'évaluer les activités antibactérienne, antifongique et antioxydante des extraits aqueux, éthanolique, hexanique, de l'huile essentielle et de l'huile totale obtenus à partir des feuilles de romarin récoltées dans la région d'Aïn Témouchent (Algérie). L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de Clevenger, tandis que les autres extraits ont été préparés par macération dans des solvants adaptés. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque contre quatre souches bactériennes de référence (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus*) ainsi que contre *Candida albicans*. L'activité antioxydante a été déterminée à l'aide des tests DPPH, ABTS et FRAP. Les résultats obtenus montrent que les différents extraits présentent des activités biologiques variables selon leur nature, l'extrait éthanolique et l'huile essentielle étant les plus actifs. Ces résultats confirment le potentiel du romarin comme source naturelle de composés bioactifs pouvant être valorisés dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique.

Mots-clés : *Rosmarinus officinalis* L., huile essentielle, extraits végétaux, activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante, composés phénoliques.

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is an aromatic and medicinal plant widely recognized for its richness in bioactive compounds, particularly essential oils, polyphenols, and flavonoids, which are responsible for numerous biological properties. The present study aimed to evaluate the antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of aqueous, ethanolic, and hexane extracts, as well as the essential oil and total oil obtained from rosemary leaves collected in the Aïn Témouchent region (Algeria). The essential oil was extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus, whereas the other extracts were prepared by maceration with appropriate solvents. Antimicrobial activity was assessed using the disc diffusion method against four reference bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus cereus*), as well as *Candida albicans*. Antioxidant activity was determined using the DPPH, ABTS, and FRAP assays. The results

Résumé

showed that the different extracts exhibited variable biological activities depending on their nature, with the ethanolic extract and the essential oil displaying the highest activities. These findings confirm the potential of rosemary as a natural source of bioactive compounds that could be exploited in pharmaceutical, food, and cosmetic applications.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L.; essential oil; plant extracts; antibacterial activity; antifungal activity; antioxidant activity; phenolic compounds.

الملخص

يُعد إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) نباتًا عطريًا وطبييًا معروفًا على نطاق واسع بغناه بالمركبات النشطة حيويًا، ولا سيما الزيوت العطرية، والبوليفينولات، والفلافونويدات، التي تُعزى إليها العديد من الخصائص البيولوجية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الأنشطة المضادة للبكتيريا، والمضادة للفطريات، والمضادة للأكسدة للمستخلصات المائية، والإيثانولية، والهكسانية، بالإضافة إلى الزيت العطري والزيت الكلي المستخلصة من أوراق إكليل الجبل التي جُمعت من منطقة عين تموشنت (الجزائر). وقد استُخلص الزيت العطري بطريقة التقطير المائي باستخدام جهاز كليفنجر، في حين حُضرت المستخلصات الأخرى بطريقة النقع باستعمال مذيبات مناسبة. وتم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص ضد أربع سلالات بكتيرية مرجعية هي: الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)، والمكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، والزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*)، والعصوية الشمعية (*Bacillus cereus*)، بالإضافة إلى المبيضات البيضاء (*Candida albicans*). كما تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبارات DPPH و ABTS و FRAP. وأظهرت النتائج المتحصل عليها أن المستخلصات المختلفة تمتلك أنشطة بيولوجية متفاوتة تبعًا لطبيعتها، حيث كان كلٌّ من المستخلص الإيثانولي والزيت العطري الأكثر فعالية. وتؤكد هذه النتائج الإمكانيات التي يتمتع بها إكليل الجبل بوصفه مصدرًا طبيعيًا للمركبات النشطة حيويًا التي يمكن توظيفها واستغلالها في المجالات الصيدلانية والغذائية ومستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis* L.، الزيت العطري، المستخلصات النباتية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للأكسدة، المركبات الفينولية.