الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N°Ref :……..

Université de EL Moudjahid Abdelhafid BOUSSOUF -Mila

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Profil phytochimique et biologique de *Salvia rosmarinus* (*Rosmarinus officinalis*)

Présenté par:

- **Ben Cheikh Le Hocine Insaf**
- **Lemoualdi Hiba Errahmen**

Devant le jury :

Dr.KEHILI Houssem Eddine	**M.C.A. à Univ. Mila**	**Président**
Dr.BOUCHEKRIT Moufida	**M.C.A. à Univ. Mila**	**Examinatrice**
Dr. BENAYACHE Feryal	**M.C.B. à Univ. Mila**	**Promotrice**

Année Universitaire : 2025/2026

Résumé

Le romarin utilisés depuis antiquité en médecine traditionnelle est reconnus par ses vertus thérapeutiques.

Dans ce contexte, le présent travail concerne l'étude du pouvoir antioxydant et antibactérien de *Salvia rosmarinus* (romarin) qui est une plante très populaire en Algérie et dans le monde.

Les parties aériennes (feuilles et tiges) de la plante ont été récoltées de la région de Mila, puis ont été soumis à une macération à froid dans le méthanol afin d'extraire les différents métabolites secondaires.

Le screening phytochimique de l'extrait MeOH indique sa richesse en métabolites secondaire notamment: les Flavonoïdes, phénol, tanins, coumarines, quinones et terpenoides.

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par la méthode Folin-Ciocalteu (151.963 mg EAG/g d'extrait) à l'aide de l'acide gallique comme phénol standards.

Les résultats obtenus pour l'activité antiradicalaire (DPPH) en utilisant l'acide ascorbique comme standard montre que l'extrait MeOH présente une activité antioxydante modéré avec une IC_{50}=151.74 µg/ml en comparaison avec la référence (IC_{50}=18.9 µg/ml).

L'extrait méthanolique montre une activité antibactérienne vis-à-vis *Bacillus subtilis* seulement avec des zones d'inhibition de 15.59, 15.12, 10.54 mm pour les concentrations 400, 200 et 100 mg/mL et aucune activité contre les souches : *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli.*

Mots clés : *Salvia rosmarinus,* polyphénols, activité antioxydant, activité antibactérienne.

Abstract

Rosemary (*Salvia rosmarinus*) is a medicinal and aromatic plant that has been used since ancient times in traditional medicine due to its numerous therapeutic properties. In this context, the present study aimed to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extract of *Salvia rosmarinus*, a plant widely distributed and commonly used in Algeria and throughout the world.

The aerial parts of the plant (leaves and stems) were collected from the Mila region and subjected to cold maceration in methanol to extract the different secondary metabolites.

Phytochemical screening of the methanolic extract revealed the presence of several secondary metabolites, particularly flavonoids, phenolic compounds, tannins, coumarins, quinones, and terpenoids.

The total polyphenol content was determined using the Folin–Ciocalteu method and was found to be **151.963 mg gallic acid equivalents (GAE)/g of extract**, with gallic acid used as the reference standard.

The antioxidant activity was assessed using the DPPH free radical scavenging assay, with ascorbic acid as the standard reference. The results showed that the methanolic extract exhibited **moderate antioxidant activity**, with an **IC_{50} value of 151.74 µg/mL**, compared with **18.9 µg/mL** for the reference standard.

Regarding antibacterial activity, the methanolic extract exhibited inhibitory activity only against *Bacillus subtilis*, producing inhibition zones of **15.59, 15.12, and 10.54 mm** at concentrations of **400, 200, and 100 mg/mL**, respectively. No antibacterial activity was observed against *Pseudomonas aeruginosa* or *Escherichia coli*.

Keywords: *Salvia rosmarinus*; polyphenols; antioxidant activity; antibacterial activity.

الملخص

يُعدّ إكليل الجبل (***Salvia rosmarinus***) من النباتات الطبية والعطرية المعروفة منذ القدم باستعمالاتها الواسعة في الطب التقليدي، لما يتميز به من خصائص علاجية متعددة. وفي هذا الإطار، يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الميثانولي لنبات إكليل الجبل، الذي يُعد من أكثر النباتات انتشارًا واستعمالًا في الجزائر وفي العديد من دول العالم.

تم جمع الأجزاء الهوائية للنبات (الأوراق والسيقان) من منطقة ميلة، ثم أُخضعت لعملية النقع البارد باستعمال الميثانول بهدف استخلاص مختلف المستقلبات الثانوية.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي للمستخلص الميثانولي غناه بالعديد من المستقلبات الثانوية، لاسيما الفلافونويدات، والمركبات الفينولية، والتانينات، والكومارينات، والكينونات، والتربينويدات.

تم تقدير محتوى البوليفينولات الكلية باستعمال طريقة فولين–سيوكالتو، حيث بلغ **151.963ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام من المستخلص(mg GAE/g)** ، وذلك باستخدام حمض الغاليك كمركب مرجعي.

كما تم تقييم النشاط الكاسح للجذور الحرة باستعمال اختبار **DPPH**، مع اعتماد حمض الأسكوربيك كمادة مرجعية. وأظهرت النتائج أن المستخلص الميثانولي يتمتع بنشاط مضاد للأكسدة بدرجة متوسطة، حيث بلغت قيمة IC_{50} = **151.74 ميكروغرام/مل**، مقارنةً بالمادة المرجعية التي سجلت قيمة IC_{50} = **18.9 ميكروغرام/مل**.

وفيما يخص النشاط المضاد للبكتيريا، أظهر المستخلص الميثانولي فعالية تجاه سلالة ***Bacillus subtilis*** فقط، حيث بلغت أقطار مناطق التثبيط **15.59و15.12 و10.54 مم** عند التراكيز **400و200 و100 ملغ/مل** على التوالي، بينما لم يُظهر أي نشاط تثبيطي ضد سلالتي ***Pseudomonas aeruginosa*** و***Escherichia col***.

الكلمات المفتاحية :إكليل الجبل(***Salvia rosmarinus***) ؛ البوليفينولات؛ النشاط المضاد للأكسدة؛ النشاط المضاد للبكتيريا.

الحمد لله عند البدء وعند الختام

Remerciements

En préambule, nous tenons à remercier Allah, le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la santé, la force et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche sans l'aide de **Dr. BENAYACHE feryal**, notre encadrante, nous tenons à lui exprimer toutes nos reconnaissances et nos remerciements pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses précieux conseils qui ont largement contribué à l'élaboration et à l'amélioration de ce travail.

Un grande merci à **Dr.KEHILI houssem Eddine** Maître de Conférences classe A à université de Mila pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

Nous sommes également reconnaissantes à **Dr.BOUCHEKRIT Moufida** Maître de Conférences classe A à l'université pour avoir accepté d'être membre de ce jury.

Nous remercions chaleureusement **AMIRA Aicha**, pour son aide précieuse et son soutien technique lors de nos travaux pratiques.

Nous exprimons notre profonde gratitude à toute personne qui, de près ou de loin a contribué à la réalisation de ce travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à nos chers parents qui nous ont soutenus tout au long de notre parcours scolaire.

Dédicace

Je dédie ma graduation d'abord ***à moi-même***. Le chemin n'a pas été facile et la fatigue n'a pas été passagère, mais je l'ai fait malgré les difficultés.

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui sont chers à moi :

À celle dont les prières ont été le secret de mon succès, à celle qui a été mon soutien et mon pilier tout au long de mon parcours scolaire***, à ma chère mère Assia.***

À celui qui m'a aidé sans rien attendre en retour et dont le soutien a été un réconfort pour moi, ***à mon cher père Derradji.***

À mon soutien, vous qui étiez avec moi à chaque étape avec votre soutien et vos encouragements, à mes chers frères ***Hilal*** et ***Abd Ennour*** et à ma chère sœur ***Roufaida.***

À mes compagnes de route avec qui j'ai partagé mes moments doux et amers, à ***Assala, Nada, Zeyneb,*** et ***Khouloud.***

À ma partenaire dans ce travail ***Insaf,*** merci pour tous les moments partagés et pour ton accompagnement sincère. Je te souhaite tout le succès dans ta vie future.

À tous ceux qui ont été d'un soutien sur ce chemin, à mes chères amies, compagnons de nombreuses années : ***Amel, Rihab***, ***Sara***, ***Maissa***, ***Taqwa*** et ***Ikhlas***.

À ma ***chère encadrante***, Merci pour votre encadrement rigoureux, votre pertinence et vos conseils.

Hiba Errahmen.

Dédicace

***El Hamdoulillah* ……Pour tous**

Pour la force dans la faiblesse, pour la patience dans l'épreuve et pour la lumière qui à guidée mes pas jusqu'à l'aboutissement de ce travail.

Je dédie ce travail :

À moi-même, pour tous les efforts que j'ai fournis tout au long de mes études. Le parcours n'a pas été facile, mais j'ai fait preuve de patience, de motivation et de persévérance pour continuer et ne pas abandonner. Je suis fière de moi et de toutes les expériences acquises et des résultats obtenus. Cette réussite est le fruit de mon travail, de ma détermination et de ma confiance en Dieu.

À mon paradis**,** à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin. Ma mère, ***Nadia***.

À celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection. Mon père, ***Abdessamed*** .

À mon adorable sœur ***Wedjdane***, mes chers frères ***Amer, Moaad, Mohamed Amine,*** et ***Mohamed fadel***, merci.

À mon mari, ***Raid***, mon bras droit, mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, Merci.

À mes chers collègues ***Assala, Nada, Zeyneb,*** et ***Khouloud***, Merci pour votre présence, votre encouragement, votre bonne humeur et pour tous les souvenirs qui ont rendus le parcours plein de joie et de bonheur.

À ma chère binôme ***hiba Errahmen***, Merci pour ta collaboration, ton soutien et les moments partagés tout au long de ce travail.

À notre chère encadrante, ***Dr. BENAYACHE feryal*** Merci pour votre encadrement rigoureux, votre pertinence et vos conseils.

Insaf.

Liste des figures

Figure 1 : Exemples des plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae*.....6
Figure 2 : l'espèce *Salvia rosmarinus* 7
Figure 3 : Structure chimique de certains métabolites secondaires de *Rosmarinus officinalis* 8
Figure 4 : Structure général des flavonoïdes 12
Figure 5 : structure de base des coumarines 13
Figure 6 : structure des tanins hydrolysables et tanins condensés 13
Figure 7 : La membrane des bactéries Gram positives 17
Figure 8 : La membrane des bactéries Gram négatives.....18
Figure 9 : *Escherichia coli* sous microscope 18
Figure 10 : *Pseudomonas aeruginosa* sous microscope.....19
Figure 11 : *Bacillus subtilis* sous microscope.....19
Figure 12 : *Staphylococcus aureus* sous microscope après la coloration de Gram 20
Figure 13 : Protocole d'extraction de *Rosmarinus officinalis* 25
Figure 14 : Dérivé de l'acide phénolique neutralisant un radical libre.....26
Figure 15 : Résultat de l'acide gallique.....36
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. 36
Figure 17 : Résultat du DPPH.....37
Figure 18 : Activité antiradicalaire de l'extrait de *Salvia rosmarinus* et l'acide ascorbique 38
Figure19 : Effet de l'extrait de ***Salvia rosmarinus*** vis-à-vis des souches bactériennes…….40

Liste des tableaux

Tableau N° 01 : Position systématique de *Rosmarinus*..... 7

Tableau N° 02 : Les différentes souches bactériennes utilisées et leur origine.....28

Tableau N°03 : Résultats de screening phytochimique de l'extrait MeOH de *Rosmarinus*…...*33*

Tableau N° 04 : Les valeurs d'IC_{50} de l'extrait et de standard.....38

Tableau N°05: Zone d'inhibition (mm) des souches bactériennes avec l'extrait méthanolique de ***Salvia rosmarinus***……...39

Liste des abréviations

MeOH	Méthanol.
$CHCl_3$	Chloroforme.
AG	Acide gallique.
FeCl3	Chlorure de fer.
HCl	Acide chlorohydrique.
H_2SO_4	Acide sulfurique.
HNO_3	Acide nitrique.
DPPH	1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle.
ATCC	Collection de cultures de types américains.
IC_{50}	Concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH.
Gram -	Bactérie Gram négatif.
Gram +	Bactérie Gram positif.
MH	Muller Hinton.
R^2	Coefficient de corrélation.
EAG/g	Equivalent acide gallique par gramme d'extrait.
µg	Microgramme.

Sommaire

Résumé

Abstract

الملخص

Remerciements

Dédicace

Introduction générale ***1***

PARTIE 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Aperçus bibliographiques sur la famille des Lamiaceae et l'espèce *Salvia rosmarinus*

1. Représentation de la famille des Lamiaceae ***5***

1.1. Caractère botanique et répartition 5

1.2. Les propriétés pharmacologiques.....5

2. Présentation de romarin..... ***6***

2.1. Description botanique.....6

2.2. Répartition et classification 7

2.3. Principes actifs 8

2.4. Les propriétés pharmacologiques.....8

Chapitre II : Les métabolites secondaires et les activités biologiques

1. Les métabolites secondaires.....***11***

1.1. Les alcaloïdes 11

1.2. Les terpènes.....11

1.3. Les composés phénoliques 11

1.3.1. Les acides phénoliques : 12

1.3.2. Les flavonoïdes 12

1.3.3. Les coumarines 12

1.3.4. Les tanins.....13

2. Méthodes d'analyse qualitative et quantitative.....***13***

3. Les activités biologiques.....***14***

3.1. L'activité antioxydante 14
3.1.1. Le stress oxydatif 14
3.1.2. Les antioxydants 15
3.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante 16
3.2. L'activité antibactérienne 16
3.2.1. Généralité sur les bactéries 17
3.2.3. Quelques souches bactériennes: 18

PARTIE 2 : *Etude expérimentale*

Chapitre I : *Materiels et Méthodes*

Introduction ***23***
1. Matériels ***23***
1.1. Appareillage 23
1.2. Matériels et produits chimiques 23
1.3. Matériel végétale 24
1.3.1. Extraction et macération 24
2. Screening phytochimique ***25***
3. Étude quantitative ***26***
3.1. Dosage des polyphénols 26
4. Les activités biologiques ***27***
4.1. L'évaluation de l'activité antixydante par DPPH 27
4.2. Évaluation de l'activité antibactérienne 28

Chapitre II: ***Résultats et discussion***

1. Screening phytochimique ***33***
2. Dosage de polyphénols ***35***
3. Évaluation de l'activité anti-radicalaire ***37***
4. Évaluation de L'activité antibactérienne ***38***
Conclusion générale ***42***
Références bibliographiques ***43***

Introduction générale

Introduction générale

Depuis l'Antiquité, les plantes ont été utilisées comme sources essentielles pour le développement de nouveaux traitements, fournissant des composés bioactifs qui soutiennent l'innovation pharmaceutique et les pratiques thérapeutiques traditionnelles à travers le monde. L'Organisation mondiale de la santé (OMS 2023) estime que plus de 35 000 espèces de plantes sont utilisés à des fins médicinales, et 70 % des matières premières pharmaceutiques dérivent des sources végétales [1].

Les plantes aromatiques et médicinales représentent une ressource précieuse en raison de la découverte progressive des applications de leurs molécules biologiquement actives dans le secteur de la santé, et le secteur économique tels que les cosmétiques, les produits pharmaceutiques et l'industrie des parfums [2].

Le romarin l'une des plantes aromatiques et médicinales appartenant à la famille des Lamiacées, largement utilisé dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle dans le monde et en Algérie [3]. Cette plante est très riche en métabolite secondaires et huiles essentielles [4], qui lui confèrent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anticancéreuses.

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, le présent travail ayant pour objectifs la caractérisation phytochimique de l'extrait issu de cette plante, à travers des analyses quantitatives et qualitative, ainsi l'étude biologiques (antioxydant et antibactérienne) de l'extrait méthanolique.

Notre manuscrit est composé de deux parties :

Une première partie bibliographique, comportant deux chapitres dont :

- Le premier chapitre est consacré à l'étude bibliographique qui représente des généralités sur la famille *Lamiaceae* et le romarin et leurs description botanique et caractéristiques pharmacologiques. .
- Le deuxième chapitre portera sur l'étude des métabolites secondaires et les activités biologiques.

Une deuxième partie expérimentale comporte la présentation de nos travaux personnels, incluant deux chapitres :

- Le premier chapitre est une étude expérimentale décrit brièvement la méthode d'extraction de la plante étudiée et les tests réalisées : screening phytochimique, dosage de polyphénols, l'activité antioxydante par le radicale DPPH et l'activité antibactérienne.
- Le deuxième chapitre est consacré à la discussion des résultats de différents tests Biologiques et chimiques effectués.

Et nous terminons par une conclusion générale qui résume notre travail.

PARTIE 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Aperçus bibliographiques sur la famille des Lamiaceae et l'espèce Salvia rosmarinus

1. Représentation de la famille des Lamiaceae

La famille des *Lamiaceae*, anciennement appelée *Labiatae*, en raison de ses fleurs caractérisées par une corolle bilabiée, présente plus de 7000 espèces regroupées en 240 genres, ses espèces présentent des propriétés aromatiques, ce qui lui confère une grande pertinence économique étant appliquées dans les cosmétiques et les remèdes à base de plantes [5].

Cette famille présente de nombreuses espèces riches en flavonoïdes, composées phénoliques et terpénoïdes [6], comme : le thym, l'origan, la sauge, la mélisse et le romarin. Cette variété de composés bioactifs confère aux Lamiacées des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires, anticancéreuses, insecticides, fongicides et bactéricides [7].

1.1. Caractère botanique et répartition

Les *Lamiaceae* sont rarement ligneuses, à tige quadrangulaire. Les feuilles sont opposées et disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre, dépourvues de stipules, à limbe généralement denté. Les fleurs généralement sont hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire. Les sépales (calice) et les pétales (corolle) sont soudés en tubes comportant habituellement quatre ou cinq lobes, ou lèvres, de forme irrégulière. Les deux, quatre ou cinq étamines sont attachées à l'intérieur du tube corollaire. L'ovaire est supère, libre et possède deux carpelles [8]. Les plantes de la famille des Lamiacées sont réparties dans le monde entier, avec une présence significative dans les régions tempérées et subtropicales [9].

1.2. Les propriétés pharmacologiques

Les Lamiacées sont connus pour leurs divers effets thérapeutiques :

- *Thymus vulgaris* utilisés pour traiter les affections respiratoires et les troubles digestifs [10].
- Les huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* et *Salvia rosmarinus* étaient utilisées comme remèdes naturels contre l'inflammation et les infections microbiennes [11]. Ainsi ils ont un rôle dans la prévention et la gestion des maladies chroniques[12].
- *Origanum vulgare* (origan) riche en composés phénoliques possède un bon pouvoir antioxydant [13].
- Les espèces de *Salvia* démontrent des effets neuroprotecteurs grâce à la présence d'acide rosmarinique [14].

- Les huiles essentielles de *Mentha* (menthe) et de *Thymus* (thym) présentent une activité à large spectre contre divers pathogènes, y compris des espèces bactériennes, fongiques et virales, telles que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* [15].
- Des composés comme l'acide rosmarinique et les terpènes des espèces de *Salvia* et de *Thymus* ont démontré la capacité de cibler sélectivement les cellules cancéreuses, offrant ainsi le potentiel de thérapies anticancéreuses [16].



Figure 1 : Exemples des plantes de la famille des Lamiaceae

2. Présentation de romarin

Le genre *Rosmarinus* a été fusionné avec le genre ***Salvia*** dans une récente analyse phylogénétique. Comme le nom *Salvia officinalis* était déjà utilisé lors de la fusion, cette espèce avait besoin d'une nouvelle épithète spécifique dans *Salvia,* elle est donc maintenant connue sous le nom de *Salvia rosmarinus* [17].

2.1. Description botanique

C'est un arbuste ou sous-arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, rameux, très feuillé, ligneux, odorant, à feuilles linéaires avec marges révolutées, gaufrées, verdâtres en dessus, hispides blanchâtres en dessous, calice en cloche, corolle bleu pâle ou blanchâtre, l'inflorescence est en épis très courts [18] [19]. Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées, et son odeur est extrêmement odorante et tenace. La floraison commence dès les mois de janvier/février et se poursuit jusqu'en avril/mai [20].



Figure 2 : l'espèce *Salvia rosmarinus*

2.2. Répartition et classification

Les régions de la méditerranée représentent une zone principale d'existence des différents types de romarin ; cette plante occupe de vastes superficies du nord de l'Afrique, et du sud de l'Europe. Il apprécie les climats chauds ou modérément secs [21] [22].

- **Noms vernaculaire**

Appellations régionales en Algérie :

Région de l'Est : Eklil

Région de l'Ouest : Helhal

Région du Centre : Yazir

Tableau N° 1 : Position systématique de *Rosmarinus* (plants 2020).

Règne	***Plantae***
Sous-règne	***Tracheobionta***
Super division	***Spermatophyta***
Division	***Magnoliophyta***
Classe	***Magnoliopsida***
Sous-classe	***Asteridae***
Ordre	***Lamiales***
Famille	***Lamiaceae***
Genre	***Salvia***
Espèce	***Salvia rosmarinus***

2.3. Principes actifs

Le romarin contient de nombreux composés bioactifs responsables de ses activités médicinales :

- **Acides phénoliques** : surtout acide rosmarinique, acides caféique, salvianoliques, sagérinique [23].
- **Flavonoïdes** : lutéoline-7-glucoside, rutine, quercétine, génkwanine… [24].
- **Huiles essentielles** : surtout 1,8-cinéole (eucalyptol), α-pinène, camphre, bornéol, camphène, myrcène, limonène, verbénone [25].
- **Diterpènes** : acide carnosique, carnosol, rosmanol, rosmaridiphénol, rosmadial [26].
- **Triterpènes** : acides ursolique, oléanolique, micromérique, corosolique [27].
- **Autre composants :** tanins, saponines, coumarines, glycosides, stérols [28].

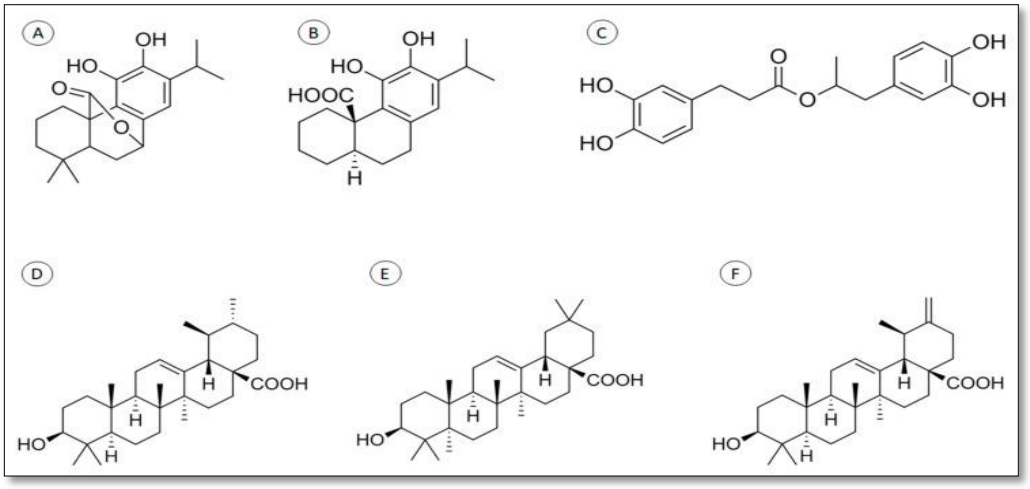


Figure 3 : Structure chimique de certains métabolites secondaires de Romarin: carnosol (A), acide carnosique (B), acide rosmarinique (C), acide ursolique (D), acide oléanolique (E) et acide micromérique (F).

2.4. Les propriétés pharmacologiques

En médecine traditionnelle, les feuilles de romarin sont utilisées pour leurs activités antibactériennes, carminatives et comme analgésiques pour les muscles et les articulations. De plus, les huiles essentielles et les extraits de romarin obtenus à partir des fleurs et des feuilles sont utilisés pour traiter les petites blessures, les éruptions cutanées, les maux de tête, la dyspepsie, les problèmes de circulation, mais aussi comme expectorant, diurétique et antispasmodique dans les coliques néphrétiques. Le romarin est connu pour exercer une activité antioxydant, inhibant ainsi la génotoxicité et protégeant des agents cancérigènes ou toxiques [29].

- L'activité antitumorale : Étant donné que le romarin est riche en composés phénoliques, les polyphénols sont des composés capables de moduler la croissance et la différenciation cellulaires et ainsi d'interférer avec le développement et la progression des tumeurs. L'acide rosmarinique et le carnosol représentent environ 5 % du poids des feuilles séchées de romarin ont une grande pertinence antitumorale [30].

-Activité antioxydant : les feuilles de *Salvia rosmarinus* sont couramment utilisées comme source de composés antioxydants employés dans la conservation des aliments dans la prévention et le traitement des maladies associées aux dommages oxydatifs, y compris le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives [31]. [32].

- L'activité antimicrobienne: Depuis les années 1990 jusqu'en 2014, l'huile essentielle de romarin a démontré la plus haute activité antimicrobienne, avec 65 % des études sur l'activité anti-infectieuse. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle était supérieure, comparée aux composés uniques 1,8-cinéole et α-pinène [33].

-Activité anti-inflammatoires et analgésiques : En médecine populaire, le romarin est connu pour ses propriétés thérapeutiques contre les douleurs abdominales et pour le traitement des maladies inflammatoires respiratoires, telles que l'asthme bronchique .Certaines études expérimentales ont rapporté les activités anti-inflammatoires et analgésiques de l'huile essentielle et des terpènes biologiquement actifs tels que l'acide carnosique, le carnosol, l'acide ursolique et l'acide bétulinique, l'acide rosmarinique, le rosmanol et l'acide oléanolique[34].

Chapitre II :

Les métabolites secondaires et les activités biologiques

1. Les métabolites secondaires

A côté des métabolites primaires (glucides, lipides, protéines) qui sont la source principal des grandes voies de métabolisme basal, les plantes contiennent aussi les métabolites secondaires qui sont des molécules n'interviennent pas à la vie de la plante mais, ils sont très importants dans les interactions des plantes avec leur environnement [35] comme les parasites, les prédateurs, ainsi que les agents de pollinisation et de dissémination. Ces différentes relations sont conduites à une diversification extrême des composés secondaires [36].

1.1. Les alcaloïdes

Ce sont des molécules organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques. Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques. Ils sont utilisés comme anticancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) [37].

1.2. Les terpènes

Les terpénoïdes représentent le groupe le plus connu de métabolites secondaires dans les plantes [38]. Leur structure de base est constituée d'un assemblage d'un nombre variable d'unités 2 méthyl butane (isoprène C_5H_8). Les isoprènes peuvent être modifiés par l'ajout de groupes méthyles ou ajout d'atomes d'oxygène. La complexité des voies biosynthétiques des terpénoïdes végétaux est à l'origine de leur diversité chimique [39].

1.3. Les composés phénoliques

Les polyphénols représentent une catégorie étendue de composés difficiles à caractériser de manière simple. L'aspect structural essentiel qui les distingue est la présence d'au moins un noyau benzénique, auquel est directement associé au moins un groupe hydroxyle, qu'il soit libre ou impliqué dans une autre fonction comme l'éther, l'ester ou l'hétéroside [40]. La structure des polyphénols est provient des deux voies métaboliques principales : la voie de shikimate et la voie de l'acétate [41].

Il existe quatre principales familles de composés phénoliques : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines [42].

1.3.1. Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques, sont des composés hydrophiles présents dans les tissus végétaux, généralement sous forme liée (glycosides, esters, etc.) et rarement à l'état libre. On les retrouve associés à d'autres éléments naturels comme les flavonoïdes et les acides gras. Leur concentration dans les matières premières végétales est affectée par des facteurs tels que les conditions climatiques, les pratiques agricoles, les méthodes de fertilisation et le moment de la récolte. Dans l'industrie alimentaire, ces composés modifient la couleur, le goût, l'arôme et la résistance à l'oxydation des produits [43].

1.3.2. Les flavonoïdes

Ils sont considérés comme des micronutriments importants pour la plante car ils peuvent jouer des rôles antioxydants et possédent des propriétés biologiques diverses.

La structure des flavonoïdes repose sur des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone

Contenant 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques, représentées par les lettres A et B, connectés par un hétérocycle oxygéné, symbolisé par la lettre C. portant des fonctions phénoliques libres, éthers ou glycosides [44].

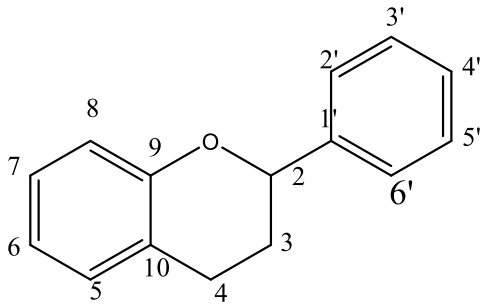


Figure 4 : Structure général des flavonoïdes.

1.3.3. Les coumarines

Possèdent un noyau benzo (2H)-1 pyrannone-2 constitué de neuf atomes de carbone. Ces composés proviennent de la cyclisation de l'acide cis-cinnamique oxygéné à C-2. Les coumarines sont remplacées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles [45].

Les coumarines sont classées en catégories, en fonction de la nature des substituants présents dans leur structure : les coumarines simples, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, les dicoumarines [46].

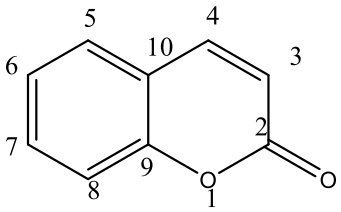


Figure 5 : Structure de base des coumarines.

1.3.4. Les tanins

Ce sont des composés polyphénoliques non, solubles dans l'eau, l'alcool, mais peu soluble dans l'éther. Dans les plantes, tous les organes peuvent en produire (racine, rhizome, écorce, feuille, fleur, fruits, graines,…).

Il y a deux types de tanins ; les tanins hydrolysables sont les tanins galliques et tanins ellagiques. Les tanins condensés (tanins catéchiques) sont non-hydrolysables [47].

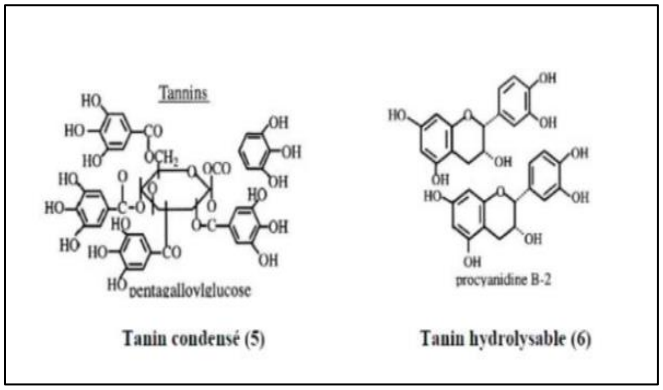


Figure 6 : Structure des tanins hydrolysables et tanins condensés.

2. Méthodes d'analyse qualitative et quantitative

- ***Le screening phytochimique***

Le screening phytochimique est l'ensemble des tests chimiques spécifiques basés sur des réactions de coloration, de turbidité ou de précipitation réalisés sur la plante étudiée afin de détecter la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux métabolites secondaires [48].

Ces réactions permettent de mettre en évidence une liste de molécules comme les polyphénols totaux (Tanins, les anthocyanes, les flavonoïdes, les coumarines), les terpènes, les Alcaloïdes, les quinones... [49].

-Le dosage des polyphénoles

La quantification des composés phénoliques est réalisée par une méthode spectrophotométrique en utilisant la méthode colorimétrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu [50].

Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est transformé par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue est liée à la concentration de composés phénoliques dans le milieu réactionnel, atteint son pic d'absorption à 765nm [51].

3. Les activités biologiques

3.1. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante est la capacité d'un composé à résister à l'oxydation. Parmi les antioxydants, on trouve le β-carotène, l'acide ascorbique ou vitamine C, le tocophérol, ou vitamine E.

La majorité des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leur structure. Les propriétés antioxydantes de ces composés sont attribuées en partie à leur capacité à capturer les radicaux libres, tels que les radicaux hydroxyles (OH) et les superoxydes (O2) [52].

3.1.1. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre les agents pro-oxydants et les antioxydants présents dans l'organisme ; ce dernier est généralement équilibré par le système de défense antioxydant, qui englobe plusieurs enzymes antioxydants ainsi que des antioxydants non enzymatiques [53].

Ce déséquilibre peut provenir de différentes sources, parmi lesquelles la production excessive interne d'agents pro-oxydants liés à l'inflammation, un manque d'antioxydants dans l'alimentation ou même une exposition environnementale à des éléments pro-oxydants (comme le tabac, l'alcool, les médicaments, les rayons gamma, les rayons ultraviolets, les herbicides et les métaux toxiques) [54].

3.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants peuvent être soit des enzymes, soit des molécules simples. Certains sont générés par le corps lui-même, on parle alors d'antioxydants endogènes, tandis que d'autres proviennent de l'alimentation ou des médicaments et sont donc considérés comme exogènes [55].

3.1.2.1. Les antioxydants naturels

- ✓ **La vitamine E :**

  C'est une vitamine liposoluble qui se trouve en quantité importante dans les huiles végétales (par exemple, l'huile de palme, d'olive et de tournesol). La vitamine E comprend un ensemble de huit molécules organiques, incluant quatre tocophérols et quatre tocotriénols [56].

- ✓ **La vitamine C**

  C'est une vitamine hydrosoluble vitale pour la santé [57], qui agit directement avec les radicaux libres et neutralise le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Cela contribue à protéger les cellules face au stress oxydatif. [58]. La vitamine C est réactive à la chaleur et à la lumière, ce qui peut provoquer une dégradation partielle de sa structure [57].

- ✓ **La vitamine A**

  La vitamine A est une vitamine liposoluble, qui fait partie de la famille des rétinoïdes d'origine animale et des caroténoïdes d'origine végétale [59].

- ✓ **Les composés phénoliques**

  Ils se divisent en quatre catégories : acides phénoliques (ex. acides gallique et caféique), diterpènes (ex. carnosol), flavonoïdes (ex. quercétine) et huiles volatiles (ex. eugénol). Les acides phénoliques neutralisent principalement les radicaux libres, tandis que les flavonoïdes peuvent également chélater des métaux [60].

3.1.2.2. Les antioxydants synthétiques

Hydroxyanisolebutylé (BHA), Hydroxytoluène butylé (BHT), tertButylhydroquinone (THBQ) et Gallate de propyle (GP), sont les antioxydants synthétiques les plus connus. Ils sont toujours remplacés par un alkyle pour augmenter leur solubilité dans les graisses et les huiles [61].

3.1.3. Les radicaux libres

Un radical libre est une entité chimique, comme un atome ou une molécule, qui comporte un ou plusieurs électrons célébataire sur sa couche externe. Ces éléments sont très réactifs grâce à cette propriété, car ces électrons ont une capacité à se ré-associer, ce qui trouble d'autres molécules et détériorent tout ce qu'ils croisent. De ce fait, ils présentent une grande réactivité avec d'autres molécules et ont une demi-vie très courte, allant de la nanoseconde à la milliseconde [62].

3.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Le radical DPPH (2.2'-diphényl-l-picryl-hydrazyl) est stable à température ambiante et se distingue par sa couleur rose-violacée bien caractéristique. L'extrait préparé contient des antioxydants qui le réduisent, provoquant une transformation de couleur facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm, entraînant ainsi une réduction de l'absorbance. La technique est généralement normalisée par rapport à un témoin positif effectué avec un antioxydant standard, tel que l'acide ascorbique (Vit C) [63].

L'estimation de l'activité antioxydante est réalisée en se basant sur la formule de pourcentages d'inhibition :

$$I\,\% = \left[\frac{A\ controle - A\ extrait}{A controle}\right] \times 100$$

- I (%) : pouvoir d'inhibition en %.
- A contrôle: absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait.
- A extrait : absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait [64].

Afin de décrire plus précisément le pouvoir antiradicalaire, on introduit le paramètre IC_{50} (la concentration inhibitrice de 50% de radicale libre DPPH dans le milieu réactionnel.

3.2. L'activité antibactérienne

Une substance antibactérienne ou bactéricide est une matière qui a la propriété d'éliminer les bactéries [65].

3.2.1. Généralité sur les bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires de type procaryote. Elles possèdent une longueur de quelques micromètres (de 0,5 à 5 um) et peuvent se manifester sous diverses formes : sphériques (coques), allongées ou en forme de bâtonnet (bacille), et avec des structures plus ou moins en spirale (spirilles) [66].

Les bactéries sont répandues et se trouvent dans tous les milieux de vie : sol, air, eau, sur les plantes et les animaux… etc. Toutefois, ces diverses espèces de bactéries sont pathogènes et causent des maladies infectieuses telles que le choléra, la syphilis et la tuberculose [67].

En fonction de la composition de la paroi cellulaire, Les scientifiques classent les bactéries en deux grands groupes : bactéries de gram positif et gram négatif [68].

Les bactéries Gram +: composent plus de 66 % des classifications de Bergey et possèdent une paroi cellulaire qui détermine leur forme, formée d'une couche de peptidoglycane entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique. Les bactéries Gram + ont généralement une paroi qui présente une épaisseur de 15 à 20 nm. Des lipoprotéines assurent la liaison entre le peptidoglycane et la membrane externe.

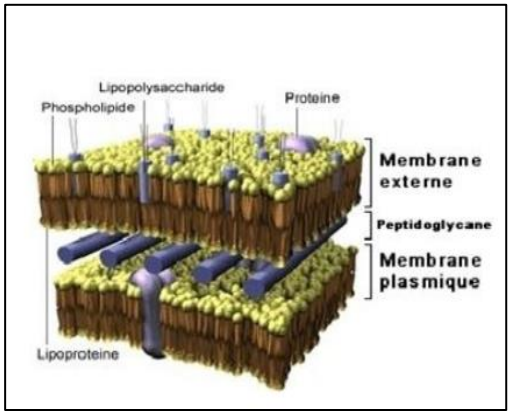


Figure 07 : La membrane des bactéries gram positives.

✓ ***Les bactéries Gram - :*** ces bactéries ont une seul paroi constituée de trois couches : la couche de peptidoglycanes formant la paroi cellulaire, l'espace périplasmique et la membrane plasmique [69].

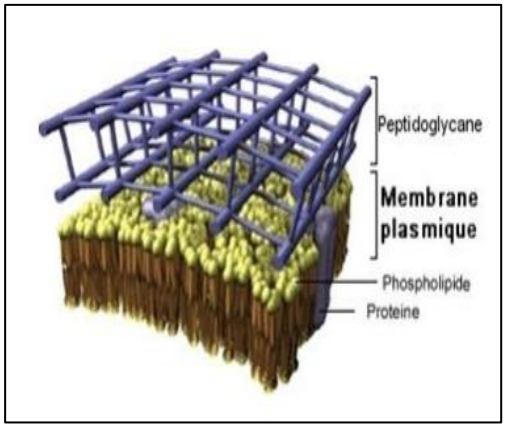


Figure 08 : La membrane des bactéries gram négatives.

3.2.3. Quelques souches bactériennes:

- ***Escherichia coli* : Gram -**

Est un bacille aérobie-anaérobie facultatif à gram négatif, membre de la famille des entérobactéries (Enterobacteriaceae), qui se trouve dans le tube digestif et les tissus intestinal de l'homme et des animaux [70]. Sa taille varie selon les conditions de croissance de 0,5 à 2 µm en largeur et de 2 à 6 µm en longueur, et peut parfois être plus grande [71].

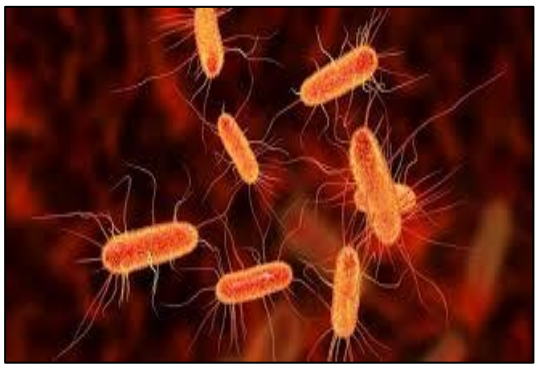


Figure 09 : ***Escherichia coli*** sous microscope.

- ***Pseudomonas aeroginosa* : Gram -**

Est un bacille à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1,5 à 3µm de long et 0,5 à 0,8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de vol moucheron. Elles sont responsables de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales [70].

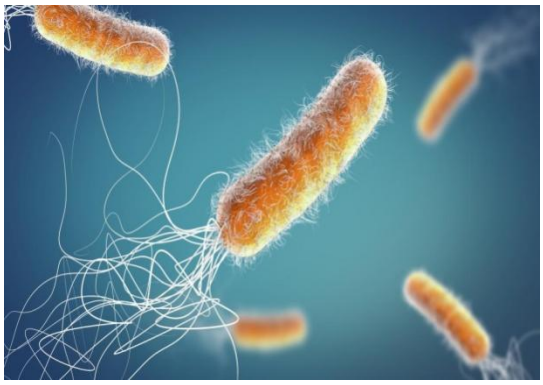


Figure 10 : ***Pseudomonas aeroginosa*** sous microscope.

- ***Bacillus subtilis*** **: Gram +**

Également appelé bacille du foin ou bacille de l'herbe, est une bactérie Gram-positive qui se caractérise principalement par sa nature ubiquitaire. Elle mesure entre 2 et 4 µm de long et entre 0,5 et 2 µm de large. Elle présente une structure cellulaire sous forme de bâtonnets droits à d'extrémités arrondies. Elle est mobile en raison d'une ciliature péritriche (un mécanisme de flagelle qui couvre toutes les faces de la surface d'une bactérie). Elle est strictement aérobie, sa température idéale est de 40 °C, généralement trouvée dans le sol. Capable de former une endospore solide et protectrice, classée comme un aérobie obligatoire [72].



Figure 11 : ***Bacillus subtilis*** sous microscope.

- ***Staphylococcus aureus*** **:Gram +**

Staphylococcus aureus est une bactérie anaérobie facultative, à Gram positif, découverte par le Dr Alexander Ogston en 1880. Elle est présent dans l'environnement et est devenue comme l'un des pathogènes les plus fréquemment identifiés dans les infections liées aux traitements hospitaliers. De plus, *S. aureus* est à l'origine de diverses pathologies, allant

des infections cutanées simples à des maladies danger, comme les abcès, la pneumonie, la méningite, l'endocardite et la septicémie [73] [74].

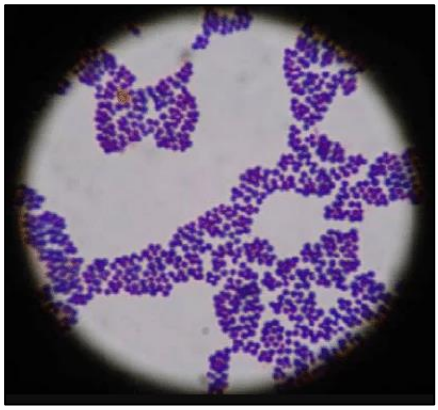


Figure 12 : ***Staphylococcus aureus*** sous microscope après la coloration de Gram.

PARTIE 2

Etude expérimentale

Chapitre I

Materiels et Méthodes

Introduction

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau de l'université Abdelhafid Boussouf , Mila, plus précisément a la faculté de Science de la nature et de la vie dont nous avons effectué l'extraction, caractérisation de l'espèce *Salvia rosmarinus*, l'analyse qualitative (screening), et quantitative (dosage polyphénols), ainsi l'estimation du pouvoir antioxydant et antibactérien de l'extrait méthanolique .

Notre démarche expérimentale se subdivise en quatre étapes principales :

- **Extraction**
- **Caractérisation phytochimique** : Réalisation des tests de screening pour détecter les différents métabolites secondaires.
- **Analyse quantitative** : Détermination de la teneur en polyphénols totaux.
- **Évaluation des propriétés biologiques** : Mesure de la capacité antioxydante contre le radicale libre, et antibactériennes vis-à-vis des souches bactériennes.

1. Matériel

1.1. Appareillage

• Spectrophotomètre UV-Visible

• Bain Marie

• Étuve

• Balance de précision

• Vortex

•Autoclave

•Bec Bunsen

1.2. Matériels et produits chimiques

Matériels	Produits chimiques
Tubes à essai	Méthanol
Erlenmeyer	L'acide gallique

Spatule	Réactif de Folin-Ciocalteu
Pipette graduée	Carbonate de sodium
Papier filtre	DPPH
Boites de Pétri	Chlorure ferrique
Les embouts	Acide ascorbique
Fiole à jauge	Hydroxyde de sodium
Eprouvette	DMSO
Micropipette	Acide Sulfurique
Écouvillons stériles	HCl

1.3. Matériel végétale

Les parties aériennes (feuilles et tiges) de *Salvia* r*osmarinus* ont été récoltées au moins de février 2026 dans la wilaya de Mila .Après la récolte, la plante a été séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 7 jours.

1.3.1. Extraction et macération

Une quantité de 25 g de matériel végétal séché a été broyée pour obtenir une poudre utilisée dans la préparation de l'extrait. Cette poudre a été placée dans un erlenmeyer contenant du méthanol comme solvant. Le mélange de la poudre végétale et du solvant a été soumis à une macération à froid durant 24 heures, à une température ambiante, le mélange a été agité régulièrement pour optimiser l'extraction des composés. Une fois la macération terminée, l'extrait a été filtré, et par la suite séché dans une étuve à 37 °C.

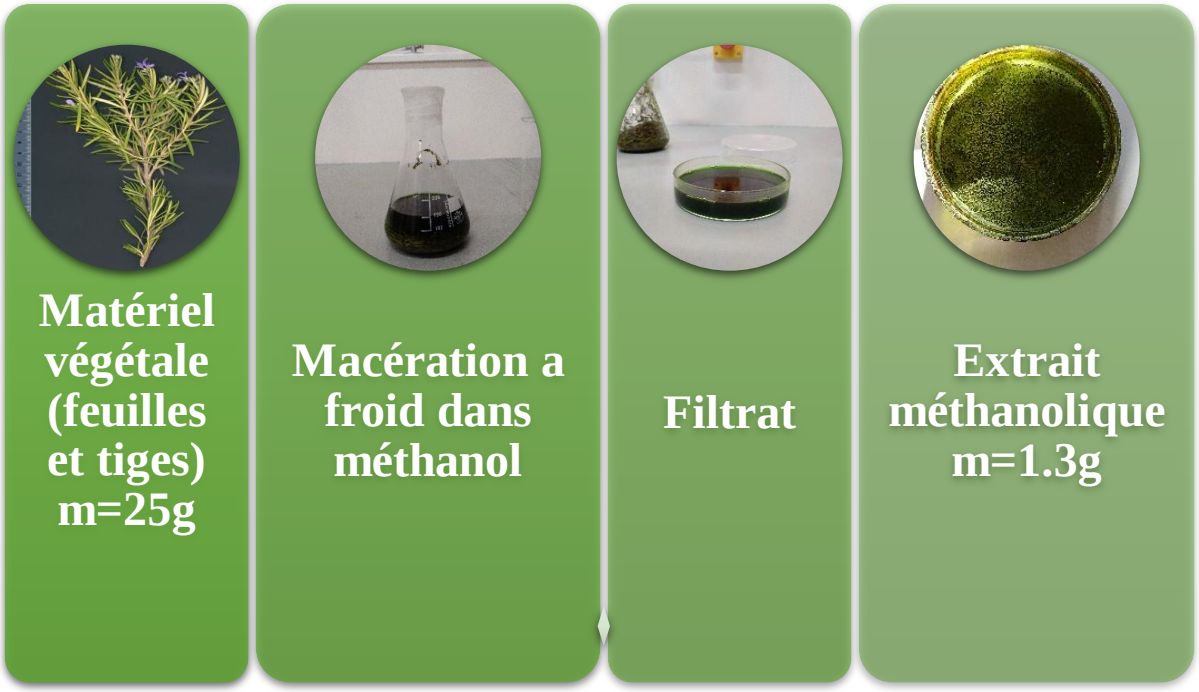


Figure13 : protocole d'extraction de *Rosmarinus officinalis*.

2. Screening phytochimique

Un screening phytochimique a été réalisé sur l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* dissous dans le méthanol afin d'identifier ses principaux constituants. Le protocole adopté pour ce screening est détaillé comme suit :

Phénol : Les composés phénoliques ont été mis en évidence en mélangeant 2 mL d'extrait MeOH avec 3 à 4 gouttes d'une solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 5 %. L'apparition d'une coloration verdâtre a confirmé leur présence [75].

Tannins : Pour identifier la présence de tanins, 2 mL d'une solution de chlorure ferrique à 5 % ont été mélangés à 1 mL de l'extrait. Le mélange a ensuite reposé pendant 2 minutes. Une coloration bleu foncé ou noir verdâtre a servi d'indicateur de la présence des tanins [76].

Flavonoïdes : Pour identifier la présence de flavonoïdes, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ainsi que quelques milligrammes de magnésium (Mg) à 1 mL de l'extrait. L'apparition d'une couleur rouge ou orange confirme alors leur présence [77] [78].

Quinone : Pour détecter la présence de quinones, 1 mL H_2SO_4 concentré a été soigneusement ajouté à 1 mL de l'extrait. L'apparition d'une coloration rouge a confirmé la présence de quinones [76].

Saponines : Un test de formation de mousse a été effectué en combinant 2 mL d'extrait avec 2 mL d'eau distillée. Le mélange a ensuite été agité pendant 15 minutes. L'apparition d'une couche stable de mousse d'environ 1 cm est un indicateur de la présence de saponines. [76].

Terpénoïdes : La détection des terpénoïdes a été réalisée en traitant 0,5 mL d'extrait avec 2 mL de chloroforme et 3 mL d'acide sulfurique concentré. La formation d'une coloration brun-rouge à l'interface confirme la présence de ces composés [76].

Glucosides : On a porté à ébullition 1 mL d'extrait au bain-marie avec 1 mL de solution de Fehling. Un précipité rouge indique la présence de sucre [79].

Coumarines : Pour détecter la présence de coumarines, 1 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium à 10 % a été mélangé avec 1 mL d'extrait. L'observation d'une coloration jaune a été interprétée comme un signe révélant la présence de ces composés [76].

3. Étude quantitative

3.1. Dosage des polyphénols

Principe : Le dosage des polyphénols totaux est effectué en suivant la méthode colorimétrique décrite par Muller (2010), qui utilise le réactif de Folin-Ciocalteu.

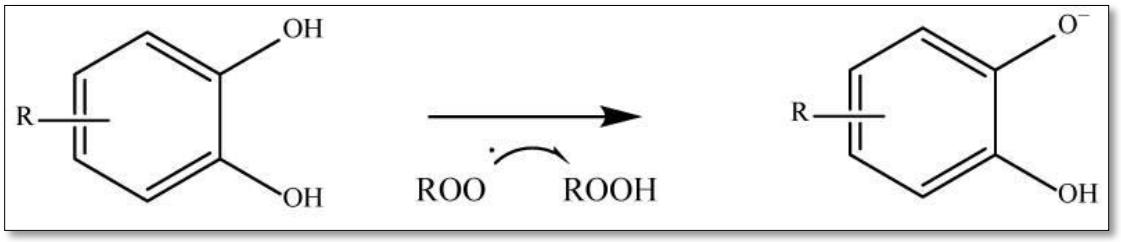


Figure14: Dérivé de l'acide phénolique neutralisant un radical libre.

Protocole : Pour effectuer le dosage, 50 mg d'extrait sont dissout dans 50 ml de méthanol pour obtenir une solution de concentration (1mg/ml). 7.5g de Na_2CO_3 sont dissout dans 100 ml d'eau distillée et la solution de Folin Ciocalteu est dilué 10 fois Pour la gamme d'acide gallique on prépare des différentes concentrations comprise entre 25 et 200µg/ml.

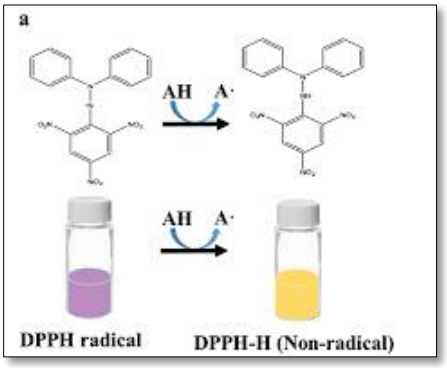
On introduit 1mL de chaque dilution à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai et on ajoute 5mL du réactif de Folin-Ciocalteu. Après agitation et une incubation de 5 minutes, on ajoute 3.75 mL de Na_2CO_3 à 7,5%. Les solutions obtenues sont ensuite conservées dans

l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été mesurée à une longueur d'onde de 765 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS.

4. Les activités biologiques

4.1. L'évaluation de l'activité antixydante par DPPH

Le radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH), est un radical libre stable utilisé pour mesurer l'activité antioxydante. Le test DPPH, repose sur des mesures spectrophotométries à 517 nm pour évaluer comment les antioxydants neutralisent ces radicaux .Le DPPH a une couleur violet profond, qui devient jaune pâle lorsqu'il réagit avec des antioxydants donneurs d'hydrogène. Cette méthode est particulièrement efficace pour évaluer les capacités antioxydantes de diverses substances, y compris les extraits de plantes et les composés phénoliques [80].



4.1.1. Mode opératoire

6 mg de DPPH sont dissous dans 150 ml de méthanol (MeOH), puis la solution est agitée jusqu'à obtention d'un mélange homogène. Ensuite, un volume de 1600 µl de cette solution de DPPH est combiné avec 400 µl de chaque dilution préparée à différentes concentrations d'acide ascorbique. Le même protocole est suivi en utilisant les différentes dilutions de l'extrait méthanolique. Après une incubation de 30 minutes, dans l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm.

4.2. Évaluation de l'activité antibactérienne

Le principe de la méthode repose sur le test de diffusion sur gélose, dont lequel des disques en papier filtre sont imprégnés de quantités connues d'extrait antibactériens et par la suite sont placés sur la plaque de gélose. Au fur et à mesure que l'inoculum bactérien se développe, l'extrait diffuse du disque circulaire dans la gélose et interagit avec les bactéries en croissance. L'activité antibactérienne est observée sous la forme d'une zone circulaire claire d'inhibition autour du disque imprégné d'extrait. Le diamètre de la zone d'inhibition, mesuré en millimètres et comparé à un graphique standardisé, détermine la sensibilité ou la résistance de la bactérie pathogène à l'extrait [81].

Tableau 02 : les souches bactériennes et leurs origines.

Souche bactérienne	**Origine**
Bacillus subtilis 	ATCC6633
Escherichia coli 	ATCC25922
Pseudomona aeruginosa 	ATCC27853

4.2.1. Préparation de l'eau physiologique

On dissout 9 g de chlorure de sodium dans un litre d'eau distillée.

4.2.2. Préparation du milieu Mueller-Hinton (MH) : On dissout 38 g de poudre de Mueller-Hinton dans un litre d'eau distillée et on chauffe le mélange tout en agitant jusqu'à obtenir une dissolution complète, après la gélose préparé a été conservée dans des flacons pour se stériliser.





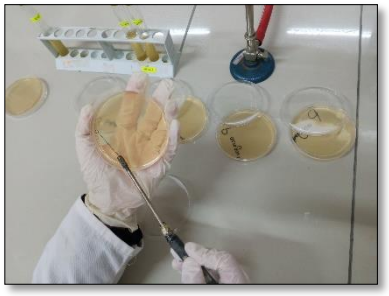
4.2.3. Préparation du bouillon nutritif (BN) : Dissoudre 13 g de poudre de bouillon nutritif dans un litre d'eau distillée.

4.2.4 Stérilisation du matériel : tous les éléments utilisés sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

4.2.5. Réactivation des souches bactériennes : Les souches bactériennes (*Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas Aeruginosa)* sont réactivées dans le bouillon nutritif et incubées à 37°C dans l'étuve pendant 24 heures.



4.2.6. Repiquage par méthode de stries : Après la revivification, les souches bactériennes sont repiquées sur la surface du milieu Mueller-Hinton à l'aide de la méthode des stries. Les stries doivent être réalisées progressivement afin d'assurer un bon isolement des colonies bactériennes. Ensuite les boîtes de culture sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures pour obtenir des cultures jeunes et bien isolées.

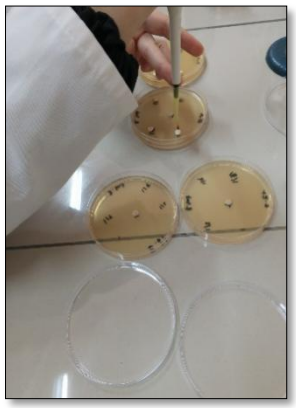


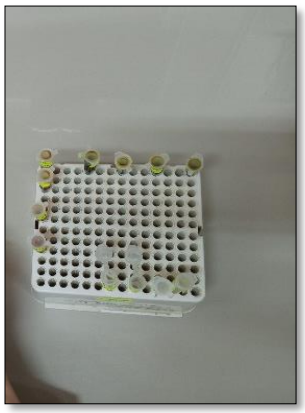
4.2.7. Préparation de l'inoculum (suspension bactérienne) : Les cultures jeunes obtenues après incubation (18 à 24 heures,) sont sélectionné (une à trois colonies bien isolées avec une anse de platine). On les met en suspension dans 9 ml d'eau physiologique stérile. On Ajuste la densité optique de la suspension (en ajoutant soit plus de culture soit davantage d'eau physiologique stérile) afin d'atteindre une valeur située entre 0,08 et 0,10 à une longueur d'onde de 625 nm.



4.2.8. Protocole : L'extrait méthanolique a été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). La solution mère d'une concentration initiale 400 mg/mL a été préparée, suivie de la préparation de dilutions progressives pour obtenir des concentrations de 200, 100 et 50 mg/mL. Une fois l'inoculum bactérien prêt et les différentes concentrations des extraits obtenues, le semis par écouvillonnage a été effectué sur la surface du milieu Mueller-Hinton, de manière à former un tapis bactérien uniforme. Des disques de papier stériles de 6 mm de diamètre ont ensuite été

déposés sur le milieu inoculé à l'aide d'une pince stérile. Chaque disque a été imbibé avec 10 µL des dilutions d'extraits précédemment préparées.





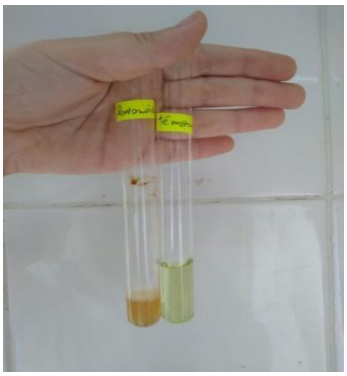
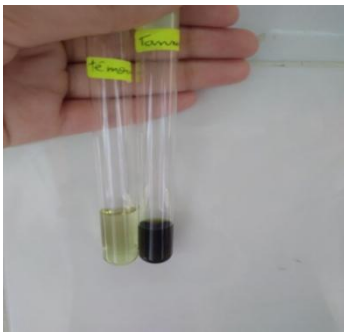
Chapitre II:

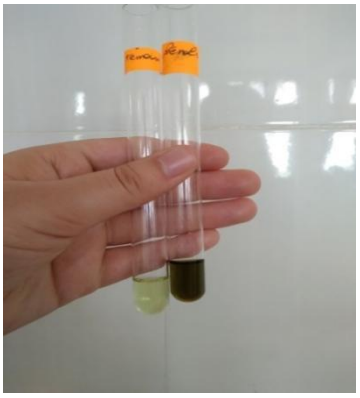
Résultats et discussion

1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques permettent d'identifier les diverses familles de composés présents dans la plante grâce à des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions reposent sur des processus de précipitation ou de coloration à l'aide de réactifs spécifiques. Les résultats de ce test phytochimique sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 03: Résultats du screening phytochimique de l'extrait méthanolique de ***Salvia rosmarinus.***

Métabolites secondaires	**Résultats**	**Observation**
Flavonoides	++	
Tanins	+++	
Saponines	-	

Terpenoides	+++	
Quinones	++	
Phénols	+++	
Coumarines	+++	

Glucosides	-	

- **(+++) : Réaction fortement positive.**
- **(++) : Réaction moyennement positive.**
- **(-) : Réaction négative.**

D'après le tableau ci-dessus, les résultats de screening phytochimique montre la richesse de S*alvia rosmarinus* en métabolites secondaires.

L'apparition d'une couleur vire au bleu noir, traduisant une réaction fortement positive, indique la présence des tanins, Ce qui confirme les travaux de **Hejaz et Makhammra (2024)** [82]. Les flavonoïdes, les coumarines et les quinones se révèlent fortement présents par une réaction fortement positive. Cela est en accord avec les recherches d'Edrah **S. et al. (2017)** [83].

Les terpénoïdes et les phénols sont également fortement présent. Par contre, on observe une absence totale des saponines et glucosides.

2. Dosage de polyphénols

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin- Ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme standard.



Figure 15: Résultat de l'acide gallique.

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 16) ayant l'équation : **(y = 0.0055x - 0.0018)**, avec un coefficient de corrélation : **(R^2 = 0.9915)**.

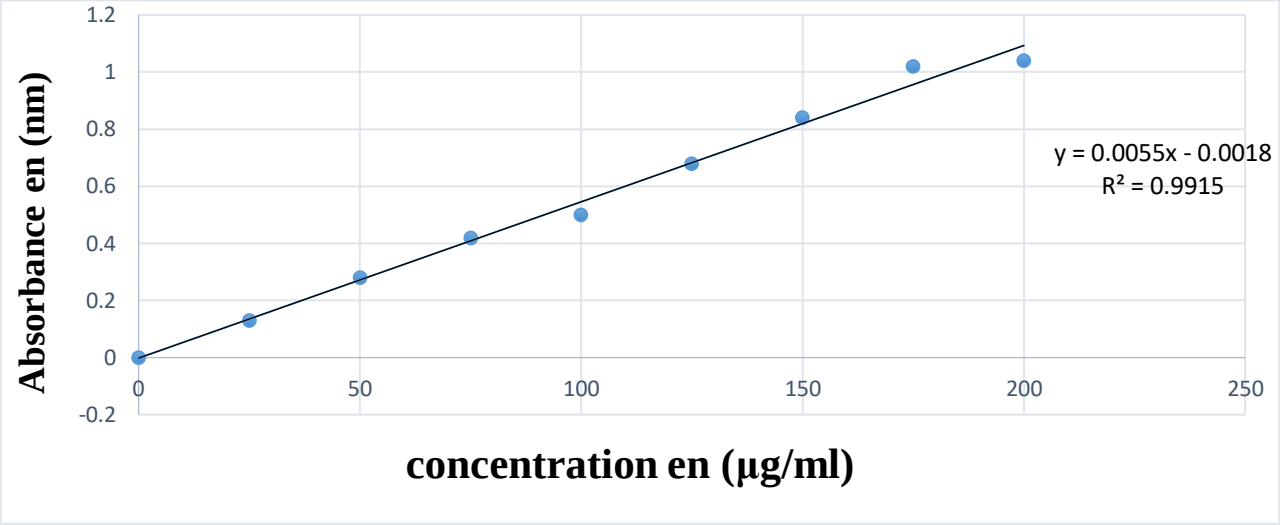


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/ g d'extrait). Les résultats indiquent que la teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique est de **151,96 mg EAG/g** d'extrait**.**

Bejenaru et al. (2024) ont effectué une étude sur le romarin issus de différentes périodes de collecte, les résultats montrent que la teneur en composés phénoliques est de l'ordre de **137.2** et **232.3 mg EAG/g** d'extrait [84], notre résultat est dans cette intervalle.

Une autre étude réalisée par **Karouche** et **al. (2021)**, montre que l'extrait méthanolique d'une espèce de la région d'Ouargla possède le taux le plus élevé en polyphenoles avec une valeur de **268,575 mg EAG/g** d'extrait [85].

Cette différence de résultats est probablement due à la distribution des métabolites secondaires pendant la croissance de la plante, ceci peut être lié aux facteurs extrinsèques (conditions climatiques, la maturité, au moment de récolte, les conditions de stockage) et intrinsèques (génétiques).

3. Évaluation de l'activité anti-radicalaire

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Salvia rosmarinus* et de l'acide ascorbique (standard) a été évaluée par la méthode de réduction du radical libre DPPH, en suivant la réduction de ce radical, qui se suit par son passage de la couleur violette (DPPH●) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 517nm (figure 17).

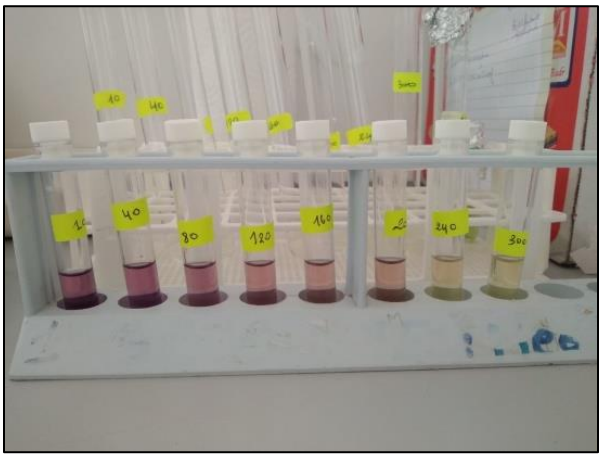


Figure 17: Résultat du DPPH.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'extrait.

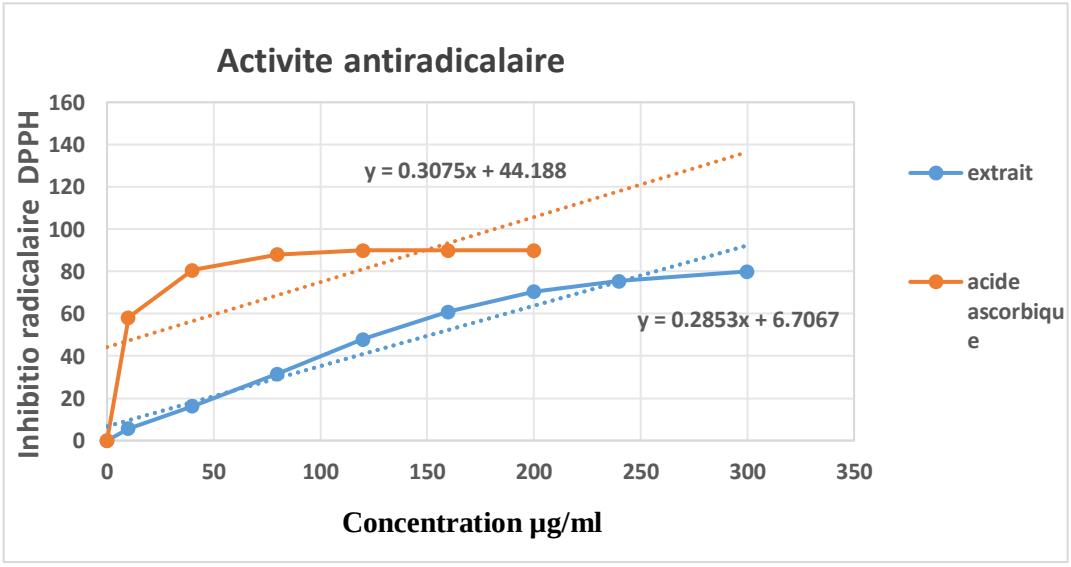


Figure 18: Activité antiradicalaire de l'extrait de ***Salvia rosmarinus*** et l'acide ascorbique.

La valeur d'IC_{50} de l'extrait méthanolique est déterminée et comparée avec celle de standard (acide ascorbique), les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 04: Les valeurs d'IC_{50} de l'extrait et de standard.

Echantillon	**IC_{50} (µg/ml)**
Extrait MeOH	151.74.
Acide ascorbique	18.9

Selon les résultats obtenus, l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante dose-dépendante avec une valeur de IC_{50} = 151.74 µg/mL. Cette activité est inférieure à celle de l'acide ascorbique qui se situe autour de 18.9 µg/ml, ces résultats sont inférieurs à celle obtenu par **Alaboudi et al**, (2025) dont la IC_{50} =172.42±1.24 µg/mL [86].

Nos résultats sont supérieurs par rapport à ceux rapporté par **Hendel, et al (**2023**),** dont la valeur d'IC50 est de l'ordre de 13.43 et 12.34 µg/mL pour l'extrait méthanolique et l'acide ascorbique respectivement [87].

Cela indique que le romarin a une activité antioxydante qui varie en fonction des concentrations de polyphénols, la structure de ces substances et le nombre de groupements hydroxyles qui présentent une forte activité antioxydante [15].

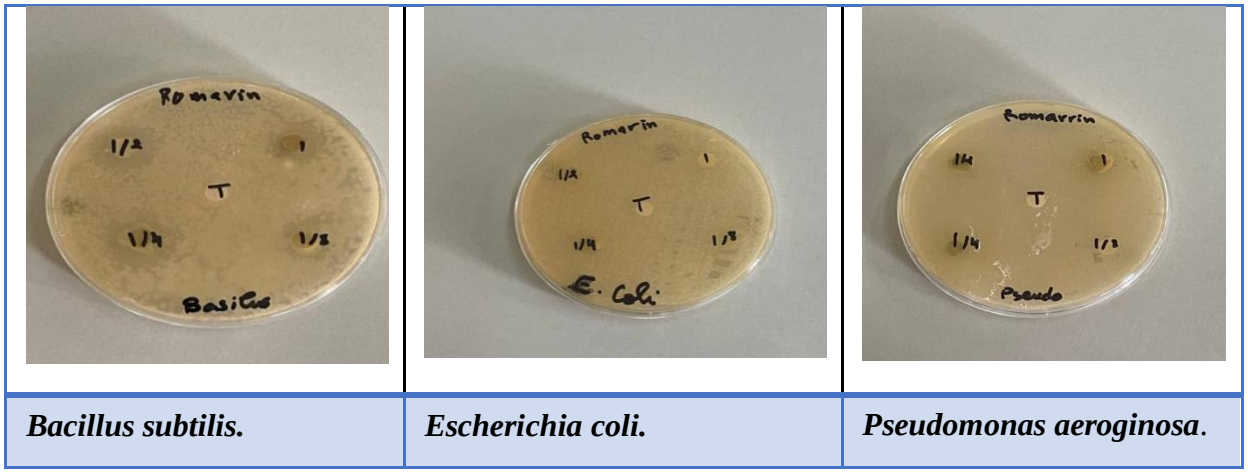
4. Évaluation de L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de ***Salvia rosmarinus*** a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Muller Hinton, en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition au tour des disques contenant l'extrait. Les résultats obtenus sont présentées dans le tableau 5 et figure 19.

Tableau 05: Zone d'inhibition des souches bactériennes avec l'extrait MeOH de ***Salvia rosmarinus.***

Souches bactériennes		Zones d'inhibition (mm)					
		C1 400 mg	$C_{1/2}$ 200mg	$C_{1/4}$ 100mg	$C_{1/8}$ 50mg	Témoin	
Escherichia coli	Gram -	-	-	-	-	-	DMSO
Pseudomonas aeruginosa	Gram -	-	-	-	-	-	DMSO
Bacillus subtilis	Gram +	15.59	15.12	10.54	-	-	DMSO

- ✓ Non-sensible (-): d < 8 mm.
- ✓ Sensible : d entre 8 à 14 mm.
- ✓ Très sensible : d entre 15 à 19 mm.
- ✓ Extrêmement sensible: d > 20 mm.



Bacillus subtilis.	***Escherichia coli.***	***Pseudomonas aeroginosa***.

Figure 19: Effet antibactérien de l'extrait de ***Salvia rosmarinus.***

les résultats montrent que les bactéries à Gram + sont plus sensibles à l'extrait que les bactéries à Gram-. La souche ***Bacillus subtilis*** est très sensible pour les concentrations 400 et 200mg/ml avec les diamètres 15.59 et 15.12 mm respectivement. Ainsi, on observe que la concentration 100 mg/ml est efficace aussi avec un diamètre 10.54 mm.

Pour les souches ***Escherichia coli*** et ***Pseudomonas aeruginosa***, aucune zone d'inhibition n'a été retrouvée pour l'extrait méthanolique. Cela est en accord avec les recherches de **Khaleel,** et **Sarmamy. (2023)**[88].

Les travaux de **Karouche .s et al (2021)** [85], ont indiqué que l'extrait méthanolique de ***Salvia rosmarinus*** présentait des zones d'inhibitions varies selon les concentrations différentes de l'extrait et la résistance des bactéries grâce à la différence de structure de la paroi cellulaire entre gram+ et gram - . Dans ce terme, La résistance d'***Escherichia coli*** et de ***Pseudomonas aeruginosa***, peut être attribuée à leur membrane externe hydrophile qui empêche le passage des composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible [89].

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans le but de la valorisation de la flore algérienne, une étude phytochimique et biologique a été effectuée sur l'extrait méthanolique de la plante ***Salvia rosmarinus.***

Les résultats de screening phytochimique ont mis en évidence la présence de flavonoïdes, tanins, phénols et quinones avec des réactions positives importantes. Ils ont également démontré la présence de coumarines, protéines et terpènoides. Cependant, l'extrait méthanolique n'a pas révélé la présence de glucosides et de saponines.

Le taux de polyphénols évaluées par la méthode de Folin-Ciocalteu révèle que l'extrait MeOH présente une valeur élevé de : **151.963 mg EAG/g d'extrait.**

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait MeOH par la méthode de piégeage du radical libre DPPH révèle une activité antioxydante notable, avec une valeur d'IC_{50} = 151.74 µg/mL. Toutefois, cette activité demeure inférieure à celle de l'acide ascorbique d'IC_{50}=18.9 µg/mL.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été effectuée sur des souches de gram + et gram - en utilisant la méthode des disques. Les résultats indiquent que seule la souche ***Bacillus subtilis*** est sensibles contre l'extrait tant disque les bactéries gram -, ***Escherichia coli*** et de ***Pseudomonas aeruginosa*** se révèlent très résistante contre l'extrait a diffèrent concentrations.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans l'investigation du pouvoir antioxydant et antibactérien du romarin, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les propriétés pharmacologiques du cette plante à usage traditionnelle.

Références bibliographiques

[1] Abada, E., Mashlawi, A. M., Gadallah, A. A., Hakami, O., El Alfy, M. A. A., Meganid, A. S., & Elbaz, R. M. (2025). Antimicrobial with time-kill kinetics, antioxidant, and anticancer properties of *Rosmarinus officinalis* L. oil extract based on its bioactive components. *BioResources*, 20, 2728–2744.

[2] Bérubé-Gagnon, J. (2006). *Isolation and identification of antibiotic compounds from Picea mariana bark* (MSc Thesis). Department of Renewable Resources, Quebec.

[3] Atikbekkara, F., Bousmaha, L., Talebbendiab, S. A., Boti, J. B., & Casanova, J. (2007). Chemical composition of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. growing wild and cultivated in the Tlemcen region. *Biology & Health*, 7, 6-11.

[4] Hostettmann, K. (1997). *Learn all about the power of plants*. ED Favre SA, Lausanne, Switzerland.

[5] Harley, R. M. (2012). Checklist and key of genera and species of the Lamiaceae of the Brazilian Amazon. *Rodriguésia*, 63(1), 129–144.

[6] Vieira, R. F., Grayer, R. J., Paton, A., & Simon, J. E. (2002). Uso de marcadores químicos no estudo da diversidade genética de *Ocimum gratissimum* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 12.

[7] Chaouche, M., Koldaş, S., Gül, F., Tüfekçi, A. R., Demirtaş, I., Ozen, T., Bora, N., Benayache, F., Kada, S., Hazmoune, H., & Seghiri, R. (2023). GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* from northeastern Algeria. *Tobacco Science and Technology*, 56(09), 1491–1501.

[8] Fazal, U., & Islam, M. S. (2019). The Pharmacological and Medicinal Importance of the Species of Lamiaceae Family, A Review Study. *Journal of Clinical Trials and Regulations*, 1(2), 17–23.

[9] Lemle, K. L. (2018). *Salvia officinalis* used in pharmaceutics. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 294(1).

[10] Ghorbani, A., & Esmaeilizadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7, 433–440.

[11] Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W., & Kowalczyk, E. (2013). The potential of use basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Molecules*, 18, 9334–9351.

[12] Chaachouay, N., & Zidane, L. (2024). Plant-derived natural products: a source for drug discovery and development. *Drugs and Drug Candidates*, 3, 184–207.

[13] Altanam, S. Y., Darwish, N., & Bakillah, A. (2025). Exploring the interplay of antioxidants, inflammation, and oxidative stress: mechanisms, therapeutic potential, and clinical implications. *Diseases*.

[14] Ashraf, M. V., Khan, S., Misri, S., Gaira, K. S., Rawat, S., Rawat, B., Khan, M. A. H., Shah, A. A., Asgher, M., & Ahmad, S. (2024). High-altitude medicinal plants as promising source of phytochemical antioxidants to combat lifestyle-associated oxidative stress-induced disorders. *Pharmaceuticals*.

[15] Aitfella Lahlou, R., Bounechada, M., Mohammedi, A., Silva, L. R., & Alves, G. (2021). Dietary use of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* as anticoccidial alternatives in poultry. *Animal Feed Science and Technology*.

[16] Azhar, M. K., Anwar, S., Hasan, G. M., Shamsi, A., Islam, A., Parvez, S., & Hassan, M. I. (2023). Comprehensive insights into biological roles of Rosmarinic acid: implications in diabetes, cancer and neurodegenerative diseases. *Nutrients*.

[17] De Macedo, L. M., Dos Santos, É. M., Militão, L., Tundisi, L. L., Ataide, J. A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G. (2020). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn. *Salvia rosmarinus* Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. *Plants*, 9(5), 651.

[18] Zermane, A. (2010). *Étude de l'extraction supercritique : Application aux systèmes Agroalimentaires* (Thèse de doctorat). Université Mentouri, Constantine.

[19] Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Tome II). Éd. CNRS, Paris, 1087 p.

[20] Zeghad, N. (s.d.). *Étude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne* (Mémoire de magister). Université Mentouri, Constantine.

[21] Iserin, P. (2001). *Larousse : Encyclopédie des plantes médicinales*. Éd. Larousse, pp. 10, 335.

[22] Boukhelfa, T. (1991). *Apport du couplage CPG/SM et CPG/IR : Techniques des analyses des mélanges naturels complexes, exemple de l'huile essentielle de romarin*. Thèse de magister, U.S.T.H.B., Alger, 126 p.

[23] Andrade, J., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity.

[24] Alaboudi, K., Aziz, I., Almosa, A., Farrag, M., Abalkhail, T., Alshalan, R., & Almuqrin, A. (2025). In vitro and in silico pharmacological effects of *Rosmarinus officinalis* leaf methanolic extracts and essential oils.

[25] Jeevalatha, A., Kalaimathi, R., Basha, A., Kandeepan, C., Ramya, S., Loganathan, T., & Jayakumararaj, R. (2022). Profile of bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis*.

[26] Borrás-Linares, I., Stojanović, Z., Quirantes-Piné, R., Arráez-Román, D., Švarc-Gajić, J., Fernandez-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2014). *Rosmarinus officinalis* Leaves as a Natural Source of Bioactive Compounds.

[27] Aziz, E., Batool, R., Akhtar, W., Shahzad, T., Malik, A., Shah, M., Iqbal, S., Rauf, A., Zengin, G., Bouyahya, A., Rebezov, M., Dutta, N., Khan, M., Khayrullin, M., Babaeva, M., Goncharov, A., Shariati, M., & Thiruvengadam, M. (2021). Rosemary species: a review of phytochemicals, bioactivities and industrial applications.

[28] Zhang, Y., Adelakun, T. A., Qu, L., et al. (2014). New terpenoid glycosides obtained from *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts. *Fitoterapia*, 99, 78–85.

[29] Kar, S., Palit, S., Ball, W. B., & Das, PK. (2012). Carnosic acid modulates Akt/IKK/NF-κB signaling by PP2A and induces intrinsic and extrinsic pathway mediated apoptosis in human prostate carcinoma PC-3 cells. *Apoptosis*, 17(7), 735–747.

[30] Lee, K.-G., & Shibamoto, T. (2002). Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4947–4952.

[31] Botsoglou, N., Taitzoglou, I., Zervos, I., Botsoglou, E., Tsantarliotou, M., & Chatzopoulou, P. S. (2010). Potential of long-term dietary administration of rosemary in improving the antioxidant status of rat tissues following carbon tetrachloride intoxication. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 944–950.

[32] Aherne, S. A., Kerry, J. P., & O'Brien, N. M. (2007). Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition*, 97(2), 321–328.

[33] Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.-J., et al. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of rosemary. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(1), 63–68.

[34] Zanella, C. A., Treichel, H., Cansian, L. R., & Roman, S. S. (2012). The effects of acute administration of the hydroalcoholic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (Lamiaceae) in animal models of memory. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(3), 389–397.

[35] Mansour, A. (2009). *Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce Centaurea africana* (Mémoire de Magister en chimie organique). Université Mentouri, Constantine.

[36] Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observation de l'alimentation de chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Thèse de doctorat). Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

[37] Bechlem H., Benayache F., Benouchenne D, Labed A. DNA intercalators alkaloids: Potential candidates to fight COVID-19 disease: systematic review. *J Res Pharm*. 2022; 26(5): 1102-1111. DOI: http://dx.doi.org/10.29228/jrp.206.

[38] Wichtl, M., & Anton, R. (2009). *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Édition Lavoisier, Paris, pp. 38, 41.

[39] Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Paris : Tec & Doc Lavoisier.

[40] Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.

[41] Boutouroù, O., et al. (2014). Chemical Constituents from *Centaurea parviflora* Desf. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(3), 1275-1281.

[42] Tapiero, H., Tew, K. D., Nguyen, Ba G., & Mathe, G. (2002). Polyphenols: Do they play a role in prevention of human pathologies? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56, 200-207.

[43] Kumar, K., Debnath, P., Singh, S., & Kumar, N. (2023). An Overview of Plant Phenolics and Their Involvement in Abiotic Stress Tolerance. *Stresses*, 3(3), 570-585.

[44] Athamena, S. (s.d.). *Étude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminum cyminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique* (Mémoire de Magister). Université El Hadj Lakhdar, Batna.

[45] Saoud, Dj. (née Hamada) (2016). *Étude Structure-Activité des Principes Actifs de la Plante Anvillea radiata Asteraceae* (Thèse de Doctorat). Université Kasdi Merbah, Ouargla.

[46] Volack, J., & Stodola, J. (1983). *Les plantes médicinales*. Éd. Gründ, Paris.

[47] Obame Engonga, L. C. (2009). *Étude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines* (Thèse de doctorat). Université de Ouagadougou.

[48] Haddouchi, F., et al. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*.

[49] Bouchnak, O., et al. (2020). Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *Myrtus communis* L. et *Rhamnus alaternus* L. *Revue Agrobiologia*, 10(1), 1749-1761.

[50] Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152.

[51] Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*, 24(6), 1123.

[52] Houas, N. (2022). *Synthèse, caractérisation, calculs quantiques et étude comparative de l'activité biologique d'un acide α-aminophosphonique et d'une base de Schiff* (Thèse de doctorat). Université Ferhat Abbas, Sétif-1.

[53] Zhong, Q., et al. (2019). The antioxidant activity of polysaccharides derived from marine organisms: An overview. *Marine Drugs*, 17(11), 674.

[54] Sorg, O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes Rendus Biologies*, 327(7), 649-662.

[55] Mahfouf, N. (2018). *Étude de l'espèce Origanum vulgare L.* (Thèse de doctorat en biologie). Université Chadli Bendjedid, El Tarf, p. 8, p. 22.

[56] Ferdjioui, S. (2014). *Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante Mentha rotundifolia* (Mémoire de magister). Université Ferhat Abbas, Sétif.

[57] Guillouty, A. (2016). *Plantes médicinales et antioxydants* (Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie). Université Toulouse III Paul Sabatier.

[58] Biomnis. (2012). Vitamine C. *Précis de biopathologie : Analyses médicales spécialisées*.

[59] Djabali, N. (2021). *Toxicité et stress oxydant*. Éditions Universitaires Européennes.

[60] Carazo, A., Macáková, K., Matoušová, K., Kujovská Krčmová, L., Protti, M., & Mladěnka, P. (2021). Vitamin A Update: Forms, Sources, Kinetics, Detection, Function, Deficiency, Therapeutic Use and Toxicity. *Nutrients*, 13(5), 1703.

[61] Atta, E. M., Mohamed, N. H., & Abdelgawad, A. A. M. (2017). Antioxidants: An overview on the natural and synthetic types. *European Chemical Bulletin*, 6(12), 565–575.

[62] Hudson, J. F. (1990). *Food antioxidants*. Elsevier Applied Science, London.

[63] Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or Another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, 165-177.

[64] 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, 25–30.

[65] Djeridane, A., et al. (2006). Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21, 719-726.

[66] Meziti, H. (2008). *Évaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de Malva parviflora L.* (Mémoire de Magister). Université Ferhat Abbas, Sétif.

[67] Labed-Zouad, I. (2015). *Composition chimique et évaluation des activités biologiques des huiles essentielles de Pistacia atlantica Desf. et de Ferula vesceritensis Coss. & Dur. et synthèse catalytique de nouveaux dérivés pipéridiniques* (Thèse de doctorat). Université des Frères Mentouri, Constantine.

[68] Hahn, M. W., Lünsdorf, H., Wu, Q., Schauer, M., Höfle, M. G., Boenigk, J., & Stadtler, P. (2003). Isolation of novel ultramicrobacteria classified as Actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 1442-1451.

[69] Gao, X. (s.d.). The role of gram staining in bacterial identification and clinical diagnostics. *Virology & Mycology*.

[70] Madani, S. (2020). Synthèse, caractérisation, étude des propriétés adsorbantes et activité antibactérienne du polystyrène-4-(5-mercapto-1,3,4-thiadiazol-2-ylimino) pentan-2-one, chélateur des ions métalliques (Thèse de doctorat). Université Ferhat Abbas, Sétif 1.

[71] Thorene, G. (1994). *Hormonal immune responses to Shiga-like toxins and Escherichia coli*. 43 p.

[72] Hahn, M. W. (2009). Le cycle lytique des actinophages infectant les *Actinobacteria* d'eau douce. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(12), 4000-4004.

[73] Ryan, K., Ahmad, N., Alspaugh, J., Drew, W., Lagunoff, M., Pottinger, P., Reller, L., Reller, M., Sterling, C., & Weissman, S. (2018). *Sherris Medical Microbiology* (7th ed.). McGraw Hill Professional.

[74] Chang, Y., Yang, C., Sun, R., Cheng, Y., Kao, W., & Yang, P. (2013). Rapid single cell detection of *Staphylococcus aureus* by aptamer-conjugated gold nanoparticles. *Scientific Reports*, 3, 1-7.

[75] Mukeshambala, F. F., Ibanda, A. P., Gakuru, J. B. S., Dhed'a, B. D., & Monde, G. K. (2024). Investigating Plant Extract in Inhibition of *Ralstonia solanacearum* Responsible for Potato Wilt. *Journal of Agricultural Science*, 16(9), 95–107.

[76] Mathe, E., Sethoga, L., Mapfumari, S., Adeniran, O., Mokgotho, P., Shai, J., & Gololo, S. (2024). Phytochemical Screening and Characterization of Volatile Compounds from Three Medicinal Plants with Reported Anticancer Properties Using GC-MS. *Life*, 14(11), 1375.

[77] Zatla, A. T., & Hammoudi, A. (2024). Phytochemical Screening and Inflammatory Activity Evaluation of Hydroalcoholic Extract of *Glycyrrhiza glabra* Root. *Chemistry Proceedings*, 16, 5.

[78] Aziz, A., & Manju, M. (2021). Phytochemical screening and quantitative analysis of locally used medicinal plants of Western Himalayas. *International Journal of Applied Research*, 7(5), 288–294.

[79] Manukonda, R. M., & Dhabal, S. (2024). Phytochemical Analysis and Evaluation of In Vitro Antimitotic Activity of *Allamanda cathartica* Methanolic Extract. *Journal of Pharma Insights and Research*, 2(4), 146–154.

[80] Yapıcı, I., Altay, A., Ozturk Sarikaya, S. B., Korkmaz, M., Atila, A., Gulcin, I., & Koksal, E. (2021). In vitro antioxidant and cytotoxic activities of extracts of endemic *Tanacetum erzincanense* together with phenolic content by LC-ESI-QTOF-MS. *Chemistry & Biodiversity*, 18, e2000812.

[81] Furuno, J. P., et al. (2014). Utiliser des antibiotiques pour améliorer la prescription d'antibiotiques dans les établissements de soins infirmiers qualifiés. *Contrôle des infections et épidémiologie hospitalière*, 35(S3), S56—S61.

[82] Hejaz, H. A. M., & Makhammra, J. M. A. (2024). Identification and quantification of *Rosmarinus officinalis* L. leaf extract phytochemical profiles using gas chromatography-mass spectrometry. *Asian Journal of Biological Sciences*, 17(3), 433–447.

[83] Edrah, S. M., Alafid, F., Imramovský, A., Altwair, K., Alkhumsi, S. I., & Hrdina, R. (2017). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Genista microcephala* and *Rosmarinus officinalis* extracts from Libyan regions. *Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*.

[84] Bejenaru, L. E., Biță, A., Mogoșanu, G. D., Segneanu, A.-E., Radu, A., Ciocîlteu, M. V., & Bejenaru, C. (2024). Polyphenols investigation and antioxidant and anticholinesterase activities of *Rosmarinus officinalis* L. species from Southwest Romania flora. *Molecules*, 29, 4438.

[85] Karouche, S., Henouda, S., Benbott, A., & Mihrab, K. (2021). Contribution à l'étude des substances bioactives et des activités biologiques de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L. *International Journal of Natural Resources and Environment*, 3(1), 53–60.

[86] Alaboudi, K. A., Aziz, I. M., Almosa, A. A., Farrag, M. A., Abalkhail, T., Alshalan, R. M., & Almuqrin, A. M. (2025). In vitro and in silico pharmacological effects of *Rosmarinus officinalis* leaf methanolic extracts and essential oils. *Scientific Reports*, 15(1), Article 93504.

[87] Hendel, N., Sarri, D., Sarri, M., Napoli, E., Piccionello, A. P., & Ruberto, G. (2023). Phytochemical analysis, antioxidant, antifungal activities of powders, methanol extracts, and essential oils from *Rosmarinus officinalis L.*, and *Thymus ciliatus* Desf. Benth. *Molecules*, 28(21), Article 7392.

[88] Khaleel, N. M. A., & Sarmamy, A. O. I. (2023). Antibacterial effects of the extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves on three multidrug resistant bacterial isolates using nanoparticle size technique. *Kurdistan Journal of Applied Research*, 8(1), 1–12.

[89] Akrout, A., El Jani, H., Amouri, S., & Neffati, M. (2010). Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba-alba* Asso, & *Thymus capitatus* Hoffm. et Link. growing wild in the southern of Tunisia. *Recent Research in Science and Technology*, 2, 29–39.