



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 الشهيد حمدة لخضر الوادي

Université d'Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED-

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire



En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie

## THEME

**Evaluation *in vitro* et *in vivo* de l'effet anti-inflammatoire et anti-ulcérogène des huiles essentielles de la plante *Rosmarinus officinalis* de les regions d'oued et Souk Ahras**

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> : BEDRA Aya

M<sup>elle</sup> : SEBA Kater elnada

M<sup>elle</sup> : OUANIS Hadil

Devant le jury:

Président :

Président

Dr .Bouali Nourredine

Université d'El Oued.

Examineur

Dr .CHouick Atef

Université d'El Oued.

Promoteur

Dr .Tlili Mohammad laid

Université d'El Oued.

Année universitaire: 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سنة ١٤٢٠

# Remerciement

*Au nom d'Allah, le Miséricordieux, le Compatissant*

*Louange à Dieu, par la grâce duquel toutes les bonnes actions sont accomplies, et que la paix et les bénédictions soient sur le plus honorable des prophètes et messagers, notre Seigneur Muhammad, ainsi que sur sa famille et ses compagnons.*

*J'adresse mes remerciements et ma gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémorandum.*

*Tout d'abord, j'adresse mes sincères remerciements et ma gratitude à mon professeur superviseur TLILI Mohammed laid, pour ses précieux conseils, son soutien continu et sa grande patience. Son soutien scientifique a joué un rôle déterminant pour surmonter les difficultés et atteindre ce stade.*

*J'aimerais également exprimer ma profonde gratitude aux membres du comité de discussion [noms des membres du comité] pour leurs commentaires constructifs et leurs conseils qui ont contribué à améliorer la qualité de cette thèse.*

*Je tiens à remercier tous les professeurs et collègues de l'Université Chahid Hamma Lakhdar de Oued Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie pour le soutien et les encouragements qu'ils m'ont apportés tout au long de la période d'étude.*

*Je n'oublie pas d'exprimer ma gratitude à ma famille et à mes amis, qui ont toujours été mon principal soutien dans toutes les étapes que j'ai franchies. A mes parents, merci pour tout, sans vous je ne serais pas là où je suis aujourd'hui.*

*En conclusion, je voudrais remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce travail, en demandant à Dieu Tout-Puissant de vous récompenser de la meilleure façon qui soit, et de faire en sorte que ce travail soit purement pour Sa face honorable et profite à tout le monde.*

*Que la paix, la miséricorde et les bénédictions d'Allah soient sur vous.*

***Etudiants : Aya, Kater elnada, Hadil***

# Dédicace

*Au nom d'Allah, le Miséricordieux, le Compatissant*

*Nous n'avons atteint les débuts que par Sa facilitation, nous n'avons atteint les fins que par Son approbation, et nous n'avons atteint les fins que par la grâce de Dieu, et la faveur de Dieu envers moi a été grande, peu importe le nombre de mots que j'écrirai, je ne peux rien trouver de plus vrai que la parole de Dieu Tout-Puissant (Dieu élève ceux qui croient parmi vous et ceux qui ont acquis la connaissance par degrés).*

*Louange à Allah, louange à Lui, et louange à Lui, par la grâce duquel toutes les bonnes actions sont accomplies.*

*Je dédie mon diplôme et le fruit de mon travail*

*À celui qui a consacré sa vie pour nous, à celui dont je porte le nom avec fierté, « mon cher père », que Dieu le protège et prolonge sa vie.*

*À ma mère, la bien-aimée de mon cœur, à celle dont les prières ont été le secret de ma réussite, que Dieu la protège et prolonge sa vie.*

*À mes frères « Mohammed Al-Cherif, Mohammed Al-Moneder, Ishaq », la prunelle de mes yeux et mon premier et dernier refuge. À ma sœur Wiiam, que ma mère n'a pas mise au monde.*

*A ceux qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours, ma famille*

*Mes tantes « Fadila, Malika, Widad, Manoubia, Lamia » à ma grand-mère Zahra « que Dieu prolonge sa vie » et à ma tante « Saida et mon grand-père Amrani, que Dieu ait pitié d'eux et qu'ils reposent dans son paradis ».*

*A mes tantes « Shahrzad, Salima, Djwaida, Samah » et à ma grand-mère « Fatima et mon grand-père Abd EL Razzaq », que Dieu prolonge leur vie.*

*À mes amis de toujours « Marwa, Safaa, Sommia, Mayada, Masaya, Djihad, Amal, Aya, Kater Nada ».*

*✍ Hadil*

## Dédicace

*Alhamdulillah et merci à Allah, qui avec son succès et sa facilitation, et grâce à Allah au début et à la fin, j'ai achevé aujourd'hui ma carrière universitaire, qui a comporté beaucoup de difficultés, d'épreuves et de fatigue, et aujourd'hui je lève mon chapeau et je dis au revoir aux années qui se sont écoulées.*

*Je dédie ce diplôme, fruit de mes efforts et de la joie que j'ai attendue pendant toutes ces années.*

*A ma mère affectueuse, mon étreinte chaleureuse, mon ciel qui ne m'a jamais quitté, et ma journée n'est pas complète sans elle` Ô secret de mon succès et baume pour mes blessures` Ô la joie de ma vie` Ô la prunelle de mes yeux et le pouls de mon cœur, ma chère mère" Saker Faiza" Que Dieu prolonge sa vie et fasse d'elle une couronne au-dessus de nos têtes.*

*A mon bouclier, avec lequel je me suis abrité et dans la vie, avec lequel j'ai été guidé et qui a éclairé mes chemins et ma voie à chaque pas que je fais. A ceux qui peinent pour que nous puissions nous reposer` A ceux qui étaient et sont toujours le toit de la maison, mon cher père" Abd AL Karim", que Dieu prolonge sa vie.*

*A ceux avec qui j'ai grandi et fait grandir ma branche parmi eux et mon grand soutien, mes frères" Mohammed, Tayeb et Mortada".*

*À mon médecin et mentor dans mes mémoires, mon cher professeur" Tili Mohammed laid"*

*À toute ma famille et à mes proches, de près ou de loin" Al-Bedra" et" Al-Saker".*

*À ceux qui ont partagé ma carrière universitaire avec moi, mes chers amis, tous par leur nom, en particulier ceux qui ont partagé mon mémoire"Katar Al-Nadä et"Hadil, et tous les étudiants de la fournée.*

*Enfin, je remercie Dieu tout-puissant, qui a été avec moi dans tous les moments difficiles que j'ai traversés, et j'espère qu'il me guidera vers le bien, si Dieu le veut.*

✍ Aya

# Dédicace

*Louange à Dieu pour son amour, son action de grâce et sa gratitude au début et à la fin, et paix et bénédiction sur notre maître Muhammad.*

*Qu'il est beau de donner ce que l'on a de plus précieux et qu'il est beau de dédier ce que l'on a de plus précieux à ce que l'on a de plus précieux. C'est avec fierté que je dédie le fruit de mon travail aux deux personnes qui m'ont donné la vie.*

*Elles m'ont soutenu matériellement, moralement et psychologiquement jusqu'à ce que je sois une plante qui se dresse sur ses tiges, avec la permission de Dieu, et que je sois la plante que les cultivateurs admirent.*

*Plante*

*À celle qui a mis le paradis sous ses pieds, à celle devant qui je m'incline avec une grande révérence et une grande reconnaissance, à celle devant qui j'espère avoir gagné son approbation, ma mère*

*Chère maman, que Dieu prolonge sa vie*

*À celle à qui je dois la vie. À celle qui m'a soutenu et qui a été une bougie qui a brûlé pour éclairer mon chemin. À celle à qui je voue des sentiments d'appréciation, de respect et de gratitude. Mon père*

*Mon cher père qui a vécu longtemps*

*À mes frères et sœurs qui sont ma force et mon soutien dans la vie, les plus beaux cadeaux du miséricordieux,*

*À tous les membres de ma famille, en particulier à ma grand-mère et à mon grand-père, qui ont toujours rêvé et attendu cette réussite.*

*À l'esprit de ma grand-mère et de mon grand-père, que Dieu repose leurs âmes*

*À tous ceux qui nous ont aidés à accomplir cet humble travail de près ou de loin, à tous ceux qui nous ont appris une lettre, en demandant à Allah Tout-Puissant de nous accorder la meilleure récompense dans ce monde et dans l'au-delà.*

*Toutes les meilleures récompenses dans ce monde et dans l'au-delà*

*✍ Kater elnada*

# Résumé

### Résumé

L'homme s'est toujours appuyé sur lui-même pour lutter contre les maladies en utilisant les ressources naturelles fournies par son environnement, en particulier les plantes. Le but de notre étude était d'évaluer l'effet gastro-intestinal, anti-inflammatoire et anti-ulcéreux des huiles essentielles de romarin *Rosmarinus officinalis* des régions d'Oued et de Souk Ahras *in vitro* et *in vivo*.

Les résultats de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC-MS) des huiles essentielles de romarin provenant de deux régions différentes d'Oued et Souk Ahras ont montré les composés biologiques les plus importants (2-pinène camphène (8,01/11,77), d-limonène (2,73/5,59), eucalyptol (16,84/12,94), linalol (6,45/4,45), bornéol (9,97/7,31) et  $\alpha$ -terpinéol (0,81/2,84)) respectivement.

Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles de romarin possèdent une forte activité anti-inflammatoire *in vitro*, en inhibant le catabolisme des protéines. Les huiles essentielles prises par voie orale à une dose de 140 mg/kg ont montré un fort effet anti-inflammatoire empêchant le développement d'un gonflement temporaire dans la jambe du rat induit par la carragénine.

L'éthanol à une dose de 1ml/kg a provoqué des ulcères gastro-intestinaux chez les rats, caractérisés par une altération des paramètres gastriques tels qu'une diminution de la sécrétion de mucus gastrique et une diminution de l'indice de protection. Un prétraitement avec des huiles essentielles de romarin à 140 mg/kg améliore significativement les paramètres gastriques.

L'examen histopathologique a confirmé la toxicité de l'éthanol par l'apparition des altérations tissulaires sévères au niveau gastro-intestinal, et l'effet cytoprotecteur d'huile essentielle par la réduction de ces dommages.

Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles ont une activité efficace contre les quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Micrococcus*).

Les résultats obtenus nous ont permis d'affirmer les huiles essentielles du romarin présentent des propriétés, anti-inflammatoire et anti-ulcéreuse justifiant leurs utilisations traditionnelles.

**Mots-clés :** Inflammation, *Rosmarinus officinalis*, ulcère gastro-intestinal, huiles essentielles, éthanol, carrageenane.

### **Abstract**

Humans have always relied on themselves to fight diseases using natural resources provided by their environment, especially plants. The aim of our study was to evaluate the anti-inflammatory and anti-ulcerative gastrointestinal effect of Rosemary essential oils *Rosmarinus officinalis* from Oued and Souk Ahras regions *in vitro* and *in vivo*.

The results of gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) analysis of rosemary essential oils from two different regions of Oued and Souk Ahras showed the most important biological compounds (2-pinene camphene (8.01/11.77), d-limonene (2.73/5.59), eucalyptol (16.84/12.94), linalool (6.45/4.45), borneol (9.97/7.31) and  $\alpha$ -terpineol (0.81/2.84)) respectively .

The results obtained showed that rosemary essential oils possess strong anti-inflammatory activity *in vitro*, by inhibiting protein catabolism. Essential oils taken orally at a dose of 140 mg/kg showed a strong anti-inflammatory effect preventing the development of temporary swelling in the rats leg induced by Carrageenan.

Ethanol at a dose of 1ml/kg caused gastrointestinal ulcers in mice characterised by altered gastric parameters such as decreased gastric mucus secretion and decreased protective index. Pre-treatment with rosemary essential oils at 140 mg/kg significantly improves gastric parameters.

Histopathological examination of tissues confirmed the toxicity of ethanol by showing severe tissue damage at the level of the gastrointestinal tract, and the cytoprotective effect of essential oils by minimising this damage.

The results obtained showed that the essential oils have effective activity against the four bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Micrococcus*).

The results obtained allowed us to confirm that rosemary essential oils have anti-inflammatory and anti-ulcer properties that justify their traditional uses.

**Keywords** : Inflammation, *Rosmarinus officinalis*, gastrointestinal ulcer, essential oils, ethanol, Carrageenan.

### ملخص

لقد اعتمد الانسان دائما على نفسه في مكافحة الامراض باستخدام المصادر الطبيعية التي توفرها بيئته ولاسيما النباتات. الهدف من دراستنا هو تقييم التأثير المضاد للالتهابات ومضاد لتقرح المعدي المعوي للزيوت الاساسية لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* لمنطقتي الواد وسوق اهراس في المختبر وفي الجسم الحي.

أظهرت نتائج تحليل كروماتوغرافيا الغاز/ القياس الكتلي GC-MS للزيوت الأساسية لنبات اكليل الجبل لمنطقتين مختلفتين للوادي وسوق اهراس اهم المركبات البيولوجيا (2-بينين كامبين ( 8.01/11.77)، د-ليمونين(2.73/5.59)، يوكالبيتول(16.84/12.94) ، لينالول (6.45/4.45)، بورنيول (9.97/7.31)، ألفا تيربينول (0.81/2.84) على التوالي.

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان الزيوت الاساسية لنبات اكليل الجبل تملك نشاطا قويا مضادا لالتهابات في المختبر، عن طريق تثبيط هدم البروتين. اظهرت الزيوت الاساسية المتناولة عن طريق الفم بجرعة 140مجم على كلغ تأثير قوي مضاد للالتهابات يمنع تطور الانتفاخ المؤقت في رجل الفار التي يسببها الكاراجينان.

تسبب الايثانول بجرعة 1مل على كلغ في قرحة الجهاز الهضمي في الفئران التي تتميز بتغيير في معايير المعدة كنقص افراز المخاط المعدي ونقص مؤشر الحماية يؤدي العلاج المسبق بالزيوت الاساسية لنبات اكليل الجبل بمقدار 140مجم على كلغ الى تحسين ملحوظ في معايير المعدة.

أكد الفحص المرضي للأنسجة سمية الايثانول من خلال ظهور تلف شديد في الانسجة على مستوى الجهاز الهضمي، والتأثير الوافي للخلايا للزيوت الأساسية عن طريق الحد من هذا الضرر.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان الزيوت الأساسية لها نشاط فعال ضد السلالات البكتيرية الأربعة (الاشريكية القولونية، المكورات العنقودية، كالبسيلا الرئوية، المكورات الدقيقة).

أتاحت لنا النتائج التي تم الحصول عليها التأكيد على أن الزيوت الأساسية لإكليل الجبل لها خصائص مضادة للالتهابات ومضادة للقرحة تبررنا استخداماتها التقليدية.

**الكلمات المفتاحية:** الالتهاب، اكليل الجبل، قرحة الجهاز الهضمي، الزيوت الأساسية، الايثانول، الكاراجينان.

## Sommaire

<b>Remerciement</b> .....	
<b>Dédicace</b> .....	
<b>Liste des Figures</b> .....	
<b>Liste des tableaux</b> .....	
<b>Liste des abréviations</b> .....	
<b>Sommaire</b> .....	
<b>Introduction générale</b> .....	Erreur ! Signet non défini.

### Partie 01: Synthés bibliographique

#### Chapitre 01: *Rosmarinus officinalis*

1. <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	5
2. Origine du nom .....	5
3. Caractéristiques.....	6
4. Description botanique .....	6
4.1. Feuilles .....	6
4.2. Fleurs.....	7
4.3. Graines .....	7
4.4. Inflorescence .....	8
5. Ecologie et répartition géographique .....	8
6. Domaines d'application du romarin .....	9
6.1. Utilisation industrielle .....	9
6.2. Utilisations médicinales .....	9
7. Composition chimique .....	10
7.1 L'huile essentielle .....	10
7.2. Les phénols diterpiniques.....	10
7.3. Les dérivés de l'acide cinnamique.....	10
7.4. Les flavonoïdes .....	10

#### Chapitre 02 : Huiles essentielles

1. Huiles essentielles .....	12
2. Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	12
3. Le positionnement des huiles essentielles dans les plantes .....	12
4. Composition chimique des huiles essentielles.....	13
4.1. Composés terpéniques.....	13

4.2. Monoterpènes .....	13
4.3. Sesquiterpènes .....	13
4.4 Composés aromatiques.....	13
5. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles. ....	14
6. Sources et procédés d'extraction des huiles essentielles .....	14
7. L'importance des huiles volatiles .....	16

### **Chapitre 03 : Inflammation**

1. Inflammation.....	18
2. Type inflammation.....	18
2.1. Inflammation aiguë .....	18
2.2. Inflammation chronique .....	18
3. Inflammation arthrite .....	19
4. Les ulcères d'estomac.....	19
5. Activité anti-inflammatoire.....	20

### **Partie 02: Experimentation**

#### **Chapitre 01 Matériel et méthodes**

1. Matériels .....	23
1.1 Présentation des régions d'étude .....	23
1.2 Matériels biologique .....	24
1.2.1. Matériels végétal .....	24
1.2.2. Matériels Animal.....	24
1.3. Matériels de laboratoire .....	24
1.4. Produits chimiques et biochimiques .....	25
2. Méthodes.....	25
2.1. Préparation des huilles essentielles .....	25
2.2. Détermination du rendement .....	26
2.3. Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC-MS).....	26
2.4 Anti-inflammation in vitro .....	27
2.5. Test toxicité .....	27
2.6. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>In vivo</i> .....	28
2.7. Évaluation de l'activité anticulcereuse (gastro protectrice) <i>In vivo</i> .....	29
2.8. Étude de l'activité antibactérienne .....	30

## Chapitre 02 : Résultat et discussion

1. Rendement d'extraction.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2. Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC-MS) .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
4. Test Toxicité .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
6. Evaluation de l'activité antiulcéreuse (gastro protectrice) .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
7. Étude de l'activité antibactérienne .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Conclusion générale</b> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Références</b> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
.....	<b>Annexe erreur! Signet non défini</b>

## Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : Fleurs de romarin .....	7
<b>Figure 02</b> : Graines de romarin.....	8
<b>Figure 03</b> : Huile essentielle .....	12
<b>Figure 04</b> : Extraction des huiles volatiles .....	15
<b>Figure 05</b> : Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger. ....	16
<b>Figure 06</b> : Situation géographique de la wilaya Souk Ahras .....	23
<b>Figure 07</b> : Extraction d'huile de romarin avec appareil Clevenger .....	23
<b>Figure 08</b> : Antibiotiques utilisés dans le test .....	26
<b>Figure09</b> : Chromatogramme de Huile essentielle du romarin d'El Oued.....	32
<b>Figure10</b> : Chromatogramme d'Huile essentielle du romarin Souk Ahras.....	34
<b>Figure11</b> : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine sous l'effet de l'HERO (EL Oued - Souk Ahras). Et du DCF à différentes.....	35
<b>Figure12</b> : morphologie générale de la foie .....	38
<b>Figure 13</b> : Effet inhibiteur des extraits d'huile de He. Romarin et de diclofénac sur le diamètre des griffes dans l'arthrite induite par l'injection de carrageenane en fonction du temps.....	37
<b>Figure 14</b> : Effet de l'extrait d'huile de romarin et de l'oméprazole sur les manifestations gastriques.....	38
<b>Figure15</b> : morphologie générales de l'estomac.....	42
<b>Figure 16</b> : Analyse histopathologique de l'estomac .....	43
<b>Figure 17</b> : <i>Activité du antibiorique (Ax , GEN) et HE ( oued , souk Ahras) du romarinue sur E.coli.....</i>	45
<b>Figure 18</b> : <i>Activité du antibiotique ( Ax , GEN) et HE ( oued , souk Ahras ) du romarinus sur staphylococcus.....</i>	46
<b>Figure 19</b> : <i>Activité du antibiotique ( Ax , GEN) et HE ( oued , souk Ahras ) du romarinus sur kp .....</i>	46
<b>Figure 20</b> : <i>Activité du antibiotique ( Ax , GEN) et HE ( oued , souk Ahras ) du romarinus sur Micrococcus.....</i>	47

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Classification du romarin .....	6
<b>Tableau02</b> : List des Produits chimiques et biochimiques utilisés dans notre étude. ....	25
<b>Tableau 03</b> : Rendement de l'extrait huileux des feuilles et de la tige	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Tableau04</b> : Composants principaux de l'huile essentielle révélée par GC MS (Souk Ahras et El Oued).....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Tableau 05</b> : Différence de poches avant et après l'injection de carraghénane	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Tableau06</b> : Diamètres d'inhibition des antibiotiques et extraits ...	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>Micrococques</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

## **Liste des abréviations**

**AAX** : Antibiotique Amicilline

**AG** : Antibiotique Gentamicine

**DMSO** : Diméthyle Sulfoxide

**GC-MS** : Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

**HE** : Huilles Essentielles

**PB** : Phosphate Buffer

# **Introduction**

La prévalence des maladies caractérisées par une étiologie inflammatoire a récemment connu une escalade. Les interventions pharmaceutiques utilisées pour traiter ces affections inflammatoires apportent un soulagement ; elles ont toutefois des répercussions importantes, potentiellement mortelles. De plus, ces médicaments sont à la fois coûteux et leur accessibilité est limitée. Ainsi, dans ce cadre, l'exploration des plantes médicinales par la recherche et le développement a inauguré une nouvelle ère pour le traitement préventif et curatif des maladies inflammatoires (**Mohd et al., 2018**).

Les plantes médicinales constituent une source importante de biomolécules présentant des vertus thérapeutiques en comparaison avec les organismes marins, les microorganismes, et les champignons. Elles contiennent une grande diversité de biomolécules non toxiques et très intéressantes pour le développement de médicaments contre diverses cibles pharmacologiques (**Amiour et al., 2014 ; Bounihi, 2016 ; Tahir et al., 2021 ; Asfaw et al., 2022**).

*Rosmarinus officinalis*, communément appelé romarin, est un arbuste pérenne à feuilles persistantes appartenant au genre *Rosmarinus* arbuste pérenne à feuilles persistantes appartenant au genre *Rosmarinus*. Originaire de la région méditerranéenne, le romarin est aujourd'hui cultivé dans le monde entier pour son utilisation comme conservateur alimentaire naturel et comme agent aromatique. Le romarin est également utilisé comme source de la médecine traditionnelle depuis des siècles. Ses utilisations vont de la stimulation de la mémoire au traitement des troubles digestifs de l'amélioration de la mémoire au traitement des troubles digestifs les troubles gastro-intestinaux.

Le secret des pouvoirs conservateurs et thérapeutiques du romarin Les pouvoirs du romarin résident dans son huile essentielle et son extrait. Alors que l'huile composition chimique de ces métabolites secondaire varie considérablement en fonction des conditions environnementales, toutes les huiles essentielles et tous les extraits de romarin contiennent des substances biologiques (O-cymène, ylang-ylangine et alpha-bisabololc, benzène-1-méthyl-2-(1-méthyl-éthyl) -,) ontient tous des composés biologiquement actifs qui les rendent uniques qui les rendent uniques. Par exemple, les composés phénoliques tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique sont responsables de la forte activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'extrait de romarin cette forte activité antioxydante ne fait pas du romarin un conservateur alimentaire efficace, mais elle est également à l'origine de toutes les autres capacités thérapeutiques du romarin, compris l'utilisation de l'huile essentielle et de l'extrait autres capacités thérapeutiques du romarin, notamment ses propriétés anticancéreuses, antidiabétiques, anti-inflammatoires et anti-inflammatoires anti-cancer, antidiabétiques,

anti-inflammatoires et anti-ulcéreux. L'inflammation est un processus de défense immunitaire de l'organisme habituellement bénéfique, dont le but est d'éliminer l'agent pathogène, réparer les lésions tissulaires et favoriser le retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé. D'un autre côté, l'inflammation accélère la production d'espèces réactive de l'oxygène et diminue les capacités de défenses anti oxydantes, favorisant l'apparition d'un stress oxydant, un facteur important dans le développement des maladies neurodégénératives, cardiovasculaires, cancer et ulcères (**Koechlin-Ramonatxo, 2006 ; Pinhasov et Kirby, 2022**).

La genèse de l'ulcère gastroduodéal est inflammatoire, quelle que soit son étiologie. Bien que, les médicaments les plus couramment utilisés dans le traitement des inflammations sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), ces molécules sont considérées comme facteur de risque important dans le développement de l'ulcère gastrique (**Mezdour et al., 2017 ; Boccellato et al., 2018 ; Talia et al., 2022**). Ainsi, il est nécessaire de chercher de nouvelles molécules naturelles à activité antiinflammatoire et antiulcéreuse moins toxiques et plus efficaces par rapport aux médicaments de synthèse.

Les puissants composés antioxydants présents dans l'huile essentielle et l'extrait de romarin sont à l'origine des propriétés antioxydantes de *R. officinalis* une plante d'une grande importance dans les industries alimentaires et médicales d'aujourd'hui. (**Rafie et al,2017**).

Dans ce contexte, cette étude vise à comparer les composés chimiques et à évaluer l'efficacité des huiles essentielles de romarin des régions d'Oued Souf et de Souk Ahras et leur effet sur l'inflammation et les ulcères gastriques.

**Partie 01 : Synthèse  
bibliographique**

**Chapitre 01:**  
*Rosmarinus officinalis*

## Chapitre1

### 1. *Rosmarinus officinalis*

Le *Rosmarinus officinalis*, communément appelé romarin, est un arbuste vivace à feuilles persistantes appartenant à la famille des Lamiacées. Originaire de la région méditerranéenne, le romarin est aujourd'hui largement cultivé dans le monde entier en raison de son utilisation comme conservateur alimentaire naturel. De plus, le romarin est utilisé depuis longtemps comme ressource médicinale traditionnelle depuis d'innombrables siècles. Les qualités intrinsèques de l'huile essentielle et de l'extrait de romarin sont responsables de ses propriétés curatives et thérapeutiques. Bien que la composition chimique de ces métabolites secondaires puisse varier selon les zones géographiques, ils présentent régulièrement une vaste gamme de composés biologiquement actifs, ce qui les rend vraiment distinctifs (**Rafie et al., 2017**). Largement utilisés comme condiment, les phytoconstitués de *R. officinalis* comprennent des molécules bioactives qui orchestrent de nombreuses activités pharmacologiques, notamment des actions anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes, antiprolifératives, antitumorales, protectrices, inhibitrices et atténuantes (**De Oliveira et al., 2019**).

### 2. Origine du nom

Le terme romarin tire ses origines de la langue latine, plus précisément des mots *rosroris* (qui fait référence à la rosée) et *marinus* (qui se rapporte à la mer), qui signifient « rosée de la mer ». De plus, les Grecs de l'Antiquité l'appelaient « *antos* », qui se traduit par « la fleur », ou « *libanotis* » en raison de son parfum aromatique (**Regiane et al., 2015**).

- **En anglais** : *Rosmarinus*
- **En français (le nom scientifique)** : *Rosmarinus officinalis*.
- **Les dénominations vernaculaires du romarin sont** : Rosemarie, herbe au couonnes, encensier (en provençal).
- **L'épithète spécifique "officinalis"** rappelle que le romarin est une plante médicinale (**Leplat et al., 2017**).

### 3. Caractéristiques

Le romarin est classé selon le tableau 01 :

**Tableau 01** : Classification du romarin (Leplat *et al.*, 2017).

<b>Règne</b>	Planta (Végétal)
<b>Embranchement</b>	Spermatophyte
<b>Sous-Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous-Classe</b>	Gamopétales
<b>Ordre</b>	Tubiflorales
<b>Sous-Ordre</b>	(Lamiaceae)
<b>Famille</b>	Lamiaceae/Labiatae
<b>Genre</b>	Rosmarinus
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>

### 4. Description botanique

Le romarin est classé comme un arbuste de petite taille, caractérisé par son feuillage aromatique et persistant composé de fines feuilles en forme d'aiguille et de petites fleurs dont la couleur peut varier du blanc au rose en passant par le violet (Makhloufi *et al.*, 2018).

Ils possèdent la capacité de résister à des conditions environnementales arides et torrides et de prospérer dans diverses compositions de sol, démontrant ainsi une capacité remarquable à s'adapter et à prospérer à travers le monde (Li *et al.*, 2024).

#### 4.1. Feuilles

Le feuillage des espèces végétales arides, telles que la lavande, le romarin et le thym, présente généralement une structure rudimentaire, étant singulier et se faisant face. Ces feuilles possèdent une morphologie élancée et allongée, manquent de robustesse, tout en résistant à l'extrême aridité en minimisant la transpiration. Elles sont disposées en faisceaux compacts et condensés, ce qui permet une floraison prolongée et abondante pendant la majeure partie de l'année (Leplat *et al.*, 2017).

## 4.2. Fleurs

Au cours du mois de mai, on peut observer la présence de petites grappes de fleurs axillaires et terminales. Ces fleurs mesurent environ 1 cm de long et présentent une teinte purpurine. Ils peuvent apparaître de couleur bleu pâle ou blanchâtre et présenter une forme de cloche bilabée. La lèvre supérieure de ces fleurs prend une forme ovale, restant intacte et composée de deux lobes lancéolés. La lèvre supérieure présente une légère bifurcation qui ressemble à un casque. Pendant ce temps, la lèvre inférieure possède trois lobes, le lobe médian étant large et de forme concave. Il est à noter que les deux étamines de la corolle sont plus longues que le reste de la fleur. De plus, l'ovaire se compose de deux carpelles surmontés d'un style allongé, incurvé et bifide (**Figure 01**) ( **مهنا, 2009** ).



**Figure 01** : Fleurs de romarin <<http://pixabay.com/en/rosemary-flower-provence-violet-283098/>> (consulté le 21/11/2024)

## 4.3. Graines

La reproduction sexuée du romarin se fait grâce à l'utilisation de graines, qui sont également plantées pendant la saison d'automne. La multiplication du romarin par voie végétative implique l'induction d'une anesthésie dans les boutures terminales ou centrales, ainsi que par la taille au printemps ou en automne (**Figure 02**) (**عبد الباسط, 2004**).



**Figure 02 :** Graines de romarin (site 01, 2024)

#### **4.4. Inflorescence**

L'inflorescence est composée de courtes grappes axillaires, responsables de toute l'activité florale. Les branches de ces grappes ont tendance à être plus hautes et possèdent une texture plus ou moins laineuse à leur base et à leurs nœuds. Ces branches peuvent parfois donner l'impression de produire des épillets stériles (Zouheir *et al.*, 2017).

#### **5. Ecologie et répartition géographique**

Le romarin habite une vaste étendue de terre et s'épanouit sur divers terrains. Il montre une préférence pour les sols riches en calcium, en argile et en limon, et on le trouve dans des zones caractérisées par un ensoleillement abondant, des températures élevées, une aridité et une protection contre les vents violents. *R. officinalis* se trouve couramment dans les maquis, les zones côtières et d'autres habitats similaires, tandis que *R. tournefort* a la capacité remarquable de prospérer dans les rocailles situées à des altitudes allant jusqu'à 1500 m au-dessus du niveau de la mer. Il coexiste souvent avec le pin d'Alep, la sauge et le thym dans ces environnements (Outaleb, 2016).

Le romarin officinal est spontané dans toute la région méditerranéenne (Tunisie, Libye, France, Espagne, Portugal, Grèce, Turquie et Italie). Cependant, étant donné qu'il est cultivé depuis l'antiquité, on le retrouve dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie notamment l'Inde, les Philippines, les Antilles, l'Australie, les Etats-Unis et le Mexique. Contrairement au *R. officinalis*, le *R. Tournefort* est seulement répandu en Afrique du Nord et au sud de l'Espagne ou il est considéré comme endémique. En Algérie les différentes espèces de romarin s'étalent sur une superficie excédant 100000 hectares sur la bande littorale et hauts plateaux et est dénommé généralement "Klil" ou "M'zir" dans les régions Berbérophones. Le *R. Tournefort*

semble être plus de rares occurrences de ce phénomène sont observées dans les régions côtières et de l'Atlas, à savoir Tellien, Algériens et Oranais, ainsi que sur les hauts plateaux des régions du centre et de l'ouest. (**Outaleb, 2016**).

## **6. Domaines d'application du romarin**

### **6.1. Utilisation industrielle**

Le romarin trouve une application dans l'assaisonnement des plats culinaires (épices) et dans la production d'huiles consommables appelées huiles de romarin. L'extraction des huiles de romarin est réalisée par distillation, le Brésil étant réputé pour sa production de ces huiles. De plus, le spécimen botanique est utilisé dans la formulation de produits de beauté. Le romarin est utilisé dans la production de cosmétiques, de savons, de shampoings et de parfums.

### **6.2. Utilisations médicinales**

Du romarin comprennent un large éventail d'avantages, notamment le traitement des coliques rénales, de la dysménorrhée, des ulcères gastro-duodénaux, des maladies inflammatoires, de la bronchopneumonie et du cancer. De plus, le romarin a une importance historique qui remonte à l'Antiquité, où il était reconnu par les Grecs comme l'herbe du souvenir en raison de ses propriétés améliorant la mémoire. De plus, le romarin est connu pour ses divers effets thérapeutiques tels que diurétique, coupe-vent, tonique pour le foie et la rate, cholérétique, drainage biliaire, réduction des calculs rénaux et prévention de la bronchopneumonie et du cancer. Il est également bénéfique pour la formation de calculs rénaux, la fortification pulmonaire, les palpitations, l'asthme, la toux, les propriétés antirhumatismales et la stimulation. De plus, le romarin a des propriétés antihypertensives, hypocholestérolémiques, antidiarrhéiques, régulatrices des menstruations et prévient la formation d'eau noire et blanche dans les yeux, ainsi que la cicatrisation des plaies, le traitement de la gale, des brûlures et son utilisation comme parchemin. L'utilisation de feuilles séchées, une fois moulues, peut guérir efficacement les blessures causées par la circoncision. L'huile volatile présente dans le romarin agit comme un décongestionnant en raison de sa composition unique. Enfin, la présence de nombreux flavonoïdes et phénols diterpéniques dans le romarin joue un rôle important dans la modulation du système immunitaire. Certains des phénols présents dans le romarin contribuent à ses propriétés thérapeutiques (**Hana, 2019**).

## 7. Composition chimique

### 7.1 L'huile essentielle

Représente environ 1 à 3 % de la plante et sa composition, ainsi que sa concentration, sont fortement influencées par les chémotypes. Cependant, diverses études menées sur une multitude d'échantillons d'huile dérivés de *R. Officinalis* et de *tournefortii* n'ont révélé aucune disparité significative en termes de nature des composés. En fait, les constituants principaux de ces huiles peuvent être du 1,8-cinéole, du p-pinène, du camphre, du bornéol, de l'acétate de bornyle, de la verbénone, du p-cymène ou du myrcène. Ces constituants peuvent être accompagnés de -caryophyllène, de limonène, de linalol, de -pinène, de sabinène, de -terpinène, de -terpinéol et de terpinène-4-ol (**Rombi et Dominique, 2007**).

### 7.2. Les phénols diterpiniques

Les phénols Sont principalement composés d'acide carnosolique, qui se dégrade rapidement et se transforme en carnosol. Ceci est accompagné d'isorosmanol, de rosmariquinone et de rosmaridiphénol (**Gonzalez- Trujano et al. 2007**).

### 7.3. Les dérivés de l'acide cinnamique

Communément appelés tanins, représentent environ 3,5 % de la composition et sont principalement constitués d'acide rosmarinique, allant de 1,1 à 2,5 % (**Outaleb, 2016**).

### 7.4. Les flavonoïdes

Quant à eux, sont observés sous forme d'aglycones et d'hétérosides, notamment la cirsimarine, la diosmine, l'hespéridine et l'homoplantiginine (**Outaleb, 2016**).

**Chapitre 02 :**  
**Huiles essentielles**

## 1. Huiles essentielles

L'Organisation internationale de normalisation (ISO) fournit une définition des huiles essentielles, les désignant comme le produit obtenu à partir de matières premières végétales par distillation à la vapeur, qui peut également inclure l'hydrodistillation ou une méthode alternative utilisant le même principe fondamental. Dans un environnement industriel, la distillation à la vapeur est la technique d'extraction la plus fréquemment utilisée. Cette méthode, connue pour son utilité et sa compatibilité avec de gros volumes, est le choix préféré. À l'inverse, l'hydrodistillation utilisant des appareils de type Clevenger est la technique de choix pour les laboratoires (**Figure 03**) (**Borges et al., 2019**).



**Figure 03** : Huile essentielle

## 2. Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Ce sont des combinaisons complexes de composés volatils. En raison de son utilisation dans les secteurs pharmaceutique et alimentaire, l'huile essentielle de *R. officinalis* (EORO) est considérée comme une source d'inspiration. L'huile essentielle de *R. officinalis* (EORO) possède une valeur commerciale importante. Il s'agit d'une solution transparente ou jaune clair possédant un parfum puissant et piquant. L'EORO représente environ 1 à 2,5 % du poids total de la plante et sa constitution chimique, comme celle des autres huiles essentielles, fluctue en fonction de la région géographique spécifique de culture des plantes, du climat dominant, du segment végétal utilisé et de la méthodologie d'extraction (**Borges et al., 2019**).

## 3. Le positionnement des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles sont d'une grande importance. Ces huiles sont synthétisées dans des compartiments cellulaires spécifiques appelés cytoplasme. Au cours du processus de synérèse, elles sont ensuite séparées en gouttelettes minuscules, qui finissent par fusionner en accumulations plus ou moins étendues. Il est important de noter que les plantes produisent des

huiles essentielles grâce à l'utilisation d'organes distincts spécifiquement. Désignés à cette fin. La présence de ces organes peut être observée dans ou sur diverses structures végétales telles que les feuilles, les fleurs, l'écorce, le bois, les racines et les rhizomes (**Baleh, 2012**).

#### **4. Composition chimique des huiles essentielles**

##### **4.1. Composés terpéniques**

L'extraction exclusive par distillation ne peut être réalisée que pour les monoterpènes en C10 et les sesquiterpènes en C15, car les autres terpènes (diterpènes en C20 et triterpènes en C30) ne sont pas entraînés par la vapeur d'eau (**Couic-Marinier et Lobstein., 2013**)

##### **4.2. Monoterpènes**

Les monoterpènes que l'on trouve principalement dans les conifères et constituent environ 90 % des huiles essentielles, sont des composés essentiels dans la nature. Ces composés possèdent des propriétés anti-infectieuses remarquables, agissant comme bactéricides, virucides et fongicides. Dans les situations où l'infection est répandue, il est conseillé d'utiliser une combinaison de monoterpènes et de phénols, selon le cas. Les monoterpènes ont notamment un effet rafraîchissant sur la peau et offrent un soulagement localisé de la douleur grâce à leur action transdermique. De plus, ces composés présentent une moindre agressivité par rapport aux phénols, ce qui en fait des toniques généraux exceptionnels, notamment dans le contexte des effets neurotoniques. Contrairement aux phénols, les monoterpènes n'induisent ni hyperthermie ni hypertension, ce qui les rend non toxiques et moins susceptibles de provoquer des effets dermocaustiques (sauf en cas d'utilisation topique prolongée). Bien qu'ils ne soient généralement pas hépatotoxiques, il existe un risque de néphrotoxicité dans certains cas (**Couic-Marinier et Lobstein., 2013**).

##### **4.3. Sesquiterpènes**

Sont des dérivés d'hydrocarbures qui présentent des propriétés antihypertensives, sédatives et anti-inflammatoires modérées. L'huile essentielle qui contient ces sesquiterpènes confère une teinte bleu foncé, connue sous le nom d'huile essentielle Matricaire. Cette coloration est le résultat direct de la présence de sesquiterpènes. En Outre, il est plausible que l'huile essentielle de Matricaire possède des applications dermatologiques, tout en présentant une toxicité potentielle pour les fonctions rénales. (**Couic-Marinier et Lobstein., 2013**).

##### **4.4 Composés aromatiques**

Provenant du phénylpropane ne sont pas aussi présents dans les huiles essentielles que dans les monoterpènes et les sesquiterpènes. Parmi ces composés, citons l'acide cinnamique et

l'aldéhyde cinnamique présents dans l'HE de cannelle, l'eugénol, l'anéthole et l'aldéhyde anisique, ainsi que le safrole. Les lactones dérivées de l'acide cinnamique, telles que les coumarines, sont principalement transportées par la vapeur d'eau et se retrouvent donc dans des huiles essentielles spécifiques, telles que l'huile de graines de céleri (**Couic-Marinier et Lobstein., 2013**).

### **5. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.**

La qualité des huiles essentielles est influencée par de nombreux facteurs, notamment :

- Hybridations génétiques
- Les races chimiques, également appelées chémotypes
- L'âge de la plante
- La composition du sol
- La méthode d'extraction.

La composition chimique des huiles essentielles présente les caractéristiques suivantes

- En général, les huiles essentielles n'ont pas la texture épaisse et crémeuse des huiles fixes.
- Ils sont volatils et présentent rarement de la couleur.
- Les huiles essentielles ont une densité et un indice de réfraction élevés, si les conditions le permettent.

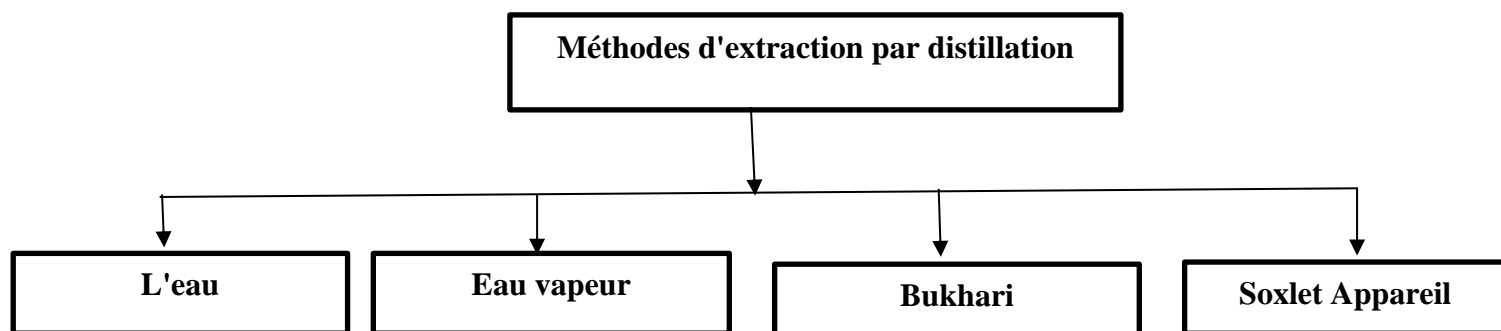
L'indice de réfraction diminue lorsque la concentration en dérivés oxygénés est élevée. Ces composés, étant composés principalement de constituants asymétriques, présentent. La propriété d'un pouvoir rotatoire. De plus, ils possèdent la capacité de se dissoudre dans l'éthanol (**Baleh, 2012**).

### **6. Sources et procédés d'extraction des huiles essentielles**

Les plantes aromatiques contiennent des huiles essentielles et sont responsables de l'émission de divers parfums. La principale méthode utilisée pour extraire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales et médicinales, est l'hydrodistillation. L'extraction des métabolites secondaires des plantes s'effectue par entraînement à la vapeur d'eau. La quantité d'huile essentielle obtenue dépend du rendement de distillation, qui fluctue au sein d'une même plante en fonction de la saison. Une autre méthode pour obtenir des huiles essentielles est l'expression à froid, comme on le voit avec les agrumes. D'autres techniques ont été développées pour améliorer l'efficacité de la production, notamment l'extraction à l'aide de dioxyde de carbone liquide à basse température et haute pression, ainsi que l'extraction par ultrasons ou par micro-ondes (**Bayala et al., 2015**).

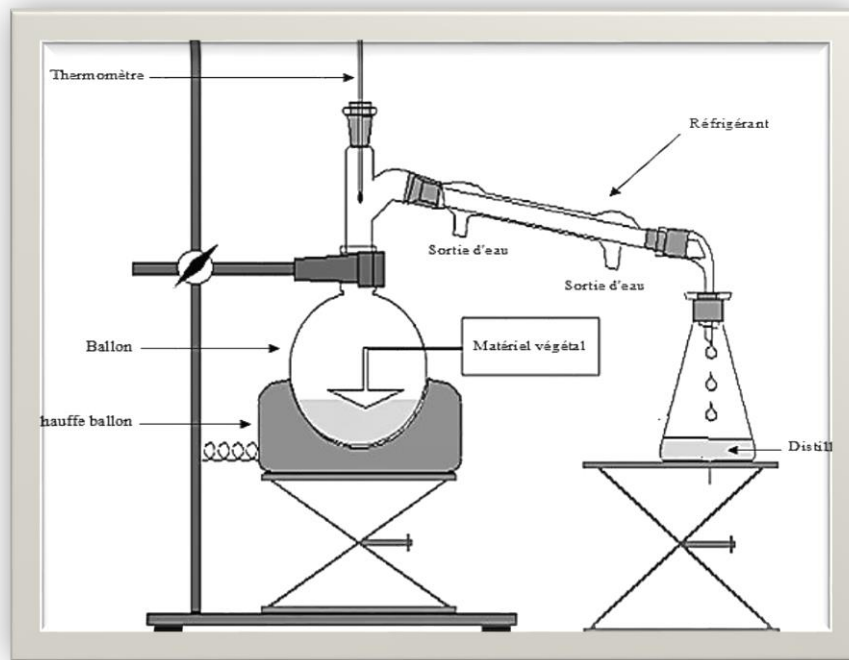
Les méthodes d'extraction des huiles essentielles (**Figure 04**) :

- L'eau
- Eau vapeur
- Bokhari
- Soxlet Appareil



**Figure 04** : Extraction des huiles volatiles

Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger. On introduit une quantité suffisante de matériel végétal (tiges, feuilles, fleurs bougeons) dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. On chauffe le mélange à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargée d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau (**Figure 05**) (Zeraib, 2018).



**Figure 05 :** Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger (Zeraib, 2018).

## 7. L'importance des huiles volatiles

- ✓ Réside dans leur capacité à faciliter le métabolisme des sous-produits biologiques et l'excrétion des tissus végétaux.
- ✓ De plus, ces huiles aident à lubrifier et à adoucir les mauvaises herbes et les ravageurs, soulageant ainsi les piqûres d'insectes.
- ✓ De plus, ces huiles agissent comme des solvants qui aident à la cicatrisation des plaies des plantes une fois la résine évaporée
- ✓ Enfin, ces huiles jouent un rôle crucial pour repousser les insectes des plantes, ce qui entraîne parfois l'émission d'odeurs désagréables dues au xylitol restant(2009, العابد).

# **Chapitre 03 : Inflammation**

## 1. Inflammation

L'inflammation représente une réponse cruciale apportée par le système immunitaire, qui garantit la préservation de la vie en cas d'infection et de lésion tissulaire. Le maintien d'une homéostasie tissulaire régulière dépend de la présence de réponses inflammatoires. Le mécanisme moléculaire de l'inflammation est un processus complexe qui est initié par l'identification de modèles moléculaires spécifiques associés à une infection ou à une lésion tissulaire. Plusieurs régulateurs clés participent à l'ensemble du processus de réponse inflammatoire, facilitant ainsi l'expression sélective de molécules pro-inflammatoires. Les inflammations prolongées ont souvent de graves effets néfastes sur la santé. Au cours des dernières décennies, les modifications des réponses inflammatoires dues à la persistance d'inducteurs ou à des variations génétiques ont augmenté, ce qui a entraîné un large éventail de maladies inflammatoires et de pathologies physiopathologiques (**Ahmed, 2011**).

## 2. Type inflammation

Chaque fois que le corps est blessé par des éléments exogènes ou endogènes, celui-ci doit réagir. Il existe généralement deux types d'inflammation : l'inflammation aiguë et chronique selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires (**Pahwa et al., 2022**).

### 2.1. Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë représente la réponse adaptative immédiate à un agent agresseur, de courte durée (quelques jours ou semaines), d'installation souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. La guérison peut être spontanée ou après un traitement et peut laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Hannoodee et Nasuruddin., 2020**). Elle se traduit par quatre symptômes cardinaux : oedème, rougeur, douleur et chaleur (**Rathinam et Fitzgerald, 2016 ; Libérale et al., 2022**).

L'inflammation subaiguë est la période entre l'inflammation aiguë et chronique et peut durer de 2 à 6 semaines (**Pahwa et al., 2020**). Il existe trois phases du processus inflammatoire aigu : phase vasculaire, phase cellulaire et phase de résolution (**Graval, 2010**).

### 2.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est également appelée inflammation lente ou à long terme. Elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années. Généralement, l'étendue et les effets de l'inflammation chronique varient selon la cause de la blessure et la capacité du corps à réparer et à surmonter les dommages (**Pahwa, 2020**). Elle correspond à la persistance de l'agent pathogène à cause de l'échec de la réponse inflammatoire aiguë ou d'une réponse inappropriée.

Dans l'inflammation chronique, les phénomènes, de destruction tissulaire et de réparation coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation, à la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aiguë, les tissus ne se régénèrent pas correctement et un phénomène de cicatrisation pathologique s'installe (**Hajjaj, 2017**).

### **3. Inflammation arthrite**

L'arthrite est caractérisée par « une inflammation douloureuse et une raideur des articulations ». La classification de l'arthrite peut être divisée en deux catégories : l'arthrite inflammatoire et l'arthrite non inflammatoire. La première étape cruciale du diagnostic et de la prise en charge des patients atteints d'arthrite consiste à différencier si l'arthrite est inflammatoire ou non inflammatoire. L'arthrite inflammatoire est généralement associée aux symptômes classiques de l'inflammation, à savoir dolor (douleur), rubor (érythème), calor (chaleur), tumor (gonflement) et functio laesa (perte de fonction), bien que toutes ces caractéristiques ne soient pas toujours observées. L'arthrite inflammatoire peut avoir diverses causes, infectieuses et non infectieuses, et peut être accompagnée ou non de caractéristiques systémiques liées à l'affection sous-jacente qui déclenche l'arthrite inflammatoire. Si elle n'est pas traitée, l'arthrite inflammatoire entraîne inévitablement des lésions et des déformations articulaires (**Pooja et al., 2023**).

### **4. Les ulcères d'estomac**

Les ulcères d'estomac constituent une affection courante qui touche une partie importante de la population mondiale. Dans le monde entier, certains chercheurs ont décrit les ulcères gastriques comme « l'épidémie émergente du 21<sup>e</sup> siècle ». La pathogenèse de l'ulcération gastrique est complexe et multiforme, résultant d'une interaction complexe entre des éléments agressifs et protecteurs au sein de la muqueuse gastrique. Les facteurs qui contribuent à l'apparition des ulcères gastriques comprennent une sécrétion acide accrue, une activité accrue de la pepsine, une diminution de la sécrétion de mucus et de bicarbonate, une libération déséquilibrée de sels biliaires, la présence d'*Helicobacter pylori*, des contractions gastriques intensifiées et une diminution du débit sanguin. En outre, la prévalence croissante des ulcères est en corrélation avec des éléments agressifs qui agissent contre la muqueuse gastrique, notamment l'exposition à l'éthanol, le stress, le tabagisme, les insuffisances nutritionnelles et l'utilisation fréquente d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Les principaux mécanismes de défense de la muqueuse gastrique impliquent la sécrétion de bicarbonate et de prostaglandines, l'élévation des taux d'antioxydants et le maintien de concentrations optimales d'oxyde nitrique (NO). L'oxyde nitrique sert à vasodilater les

---

vaisseaux sanguins, à améliorer la circulation sanguine et à favoriser l'angiogenèse dans l'estomac pendant la phase de guérison de l'ulcère (**Amaral *et al.*, 2013**).

### **5. Activité anti-inflammatoire**

Des études pharmacologiques ont montré que le romarin possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-inflammatoires. L'extrait d'huile de romarin semble être le plus efficace pour réduire l'œdème dans les modèles murins d'inflammation induite par la carragénine. Le principal composé de cet extrait est l'acide rosmarinique (**Azza et Oudghiri., 2015**).

## **Partie 02: Experimentation**

# **Chapitre 01: Matériel et méthodes**

## 1. Matériel

### 1.1 Présentation des régions d'étude

#### 1.1.1. Wilaya El-Oued

La ville d'El-Oued est située au sud-est de l'Algérie, au milieu du désert du Sahara, et est la capitale du gouvernorat d'El-Oued. El-Oued fait partie du désert du nord-est, et appartient à la région de la Grande Course Orientale, à environ 630 kilomètres de la capitale de l'Algérie, et est bordée à l'est par la République de Tunisie, à l'ouest par les provinces d'El-Meghair et de Touggourt, au nord par les provinces de Tébessa, Khenchela et Biskra, et au sud par Ouargla.

#### 1.1.2. Wilaya de Souk-Ahras

La région de Souk Ahras est située dans le nord-est du pays, le long de la frontière entre l'Algérie et la Tunisie, et couvre une superficie approximative de 4359,65 kilomètres carrés. Elle partage ses frontières au nord-est avec la province d'El Tarf, au nord-ouest avec les provinces de Guelma et d'Oum El Bouaghi, à l'est avec les provinces de Guelma et d'Oum El Bouaghi, à l'est avec la République tunisienne et au sud avec la province de Tébessa.



**Figure 06:** Situation géographique de la wilaya Souk Ahras

## **1.2 Matériels biologique**

### **1.2.1. Matériels végétal**

Les plants de romarin ont été obtenus dans deux régions différentes (El Oued et Souk Ahras), lavés et débarrassés de leurs impuretés, puis séchés à l'air libre pendant deux semaines. Plante herbacée à feuillage persistant, c'est une plante de petite taille qui vit plus de deux ans et atteint une hauteur d'un à deux mètres.

La validation et la vérification des plantes ont été effectuées par le Dr. Chouikh Atef au département de botanique de l'université Chahid Hamma Lakhdar El Oued.

### **1.2.2. Matériels Animal**

Des rats mâles de type Wistar, de poids variés (entre 183 et 245 g), ont été utilisées afin de réaliser une étude in vivo pour l'évaluation de l'activité antiulcéreuse de l'extrait HE. R sur l'inhibition de la formation de l'ulcère gastrique provoquée par l'éthanol. Ils ont été mis sous des conditions favorables à leur croissance, à une température contrôlée à 25 C et avec un cycle lumière/obscurité de 12h/12h.

## **1.3. Matériels de laboratoire**

- Clevenger
- Spectrophotométrie,
- Bain ultrasonique
- Etuve,
- Balance de précision
- Autoclave,
- Plaque chauffante
- Micropipette,
- Papier Filtre,
- Bec Benzène,
- Anse de Platine,
- Pince stérilisée
- Disques vide stériles
- Réfrigérateur
- Boites de pétrie

- Entonnoir.

## 1.4. Produits chimiques

Pour l'évaluation des activités de Romarin, nous avons utilisé de nombreux produits chimiques et biochimiques produits du Laboratoire de biochimie d'Université d'El-Oued. Parmi les substances chimiques et biochimiques utilisées dans l'étude Tableau 02.

**Tableau 02 :** List des Produits chimiques et biochimiques utilisés dans notre étude.

Produit	Forme	Chimique formule
Eau distillé	Liquide	/
Ethanol	Liquide	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
Diméthyle sulfoxide(DMSO)	Liquide	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS
Carragénine	Poudre	/
Mueller Hinton	Poudre	/
Médicament Diclofénac	Solide	/
Médicament Oméprazole	Solide	/
Antibiotique amoxicilline	Solide	/
Antibiotique Gentamicine	Solide	
phosphate buffer	Liquide	C <sub>12</sub> H <sub>3</sub> K <sub>2</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>8</sub> P <sub>2</sub>

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparation des huiles essentielles

150 g de la partie aérienne des deux plantes ont été pesés et placés dans un flacon et 1500 ml d'eau distillée ont été ajoutés et placés dans l'extracteur d'huile Clevenger pendant quatre heures, puis l'huile a été extraite et placée dans des flacons étanches à la lumière (**Figure 07**).



**Figure 07:** Extraction d'huile de romarin avec appareil Clevenger (photo Original, 2024)

## 2.2. Détermination du rendement

Le rendement est défini comme le pourcentage d'huile extraite de la plante de romarin

$$R (\%) = (P1 - P) * 100$$

- R : rendement
- P : Poids du flacon vides
- P1 : Poids du flacon contenant l'huile

## 2.3. Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC-MS)

Analysée L'huile essentielle a également été analysée par Agilent Technologies Inc 6890N Gas Grid 6890N (Hussain *et al.*, 2010).

Chromatographe en phase gazeuse (GC), équipé d'une grille d'analyse sélective Agilent-Technologies 5975 XL et d'un gaz inerte sélectif Agilent avec un auto injecteur Agilent-Technologies série 7683B. La séparation des constituants chimiques des huiles essentielles a été effectuée sur une colonne GC-2030 Un volume d'échantillon de 1,0  $\mu$ l a été injecté a été injecté dans la colonne en utilisant le mode split (split ratio 60.0).

La détection MS a été réalisée par un système d'ionisation électronique avec une énergie d'ionisation de 70V. Le programme de température du four de la colonne était de 40°C. La plage

de balayage de masse était de 50-550 m/z, tandis que la température de l'injecteur et de la ligne de transfert MS était respectivement fixée à 250 °C.

Les composants de l'huile essentielle ont été identifiés sur la base de la comparaison de leurs spectres de masse, leurs temps de rétention et leurs indices de rétention avec ceux d'échantillons authentiques, de la bibliothèque de spectres de masse du NIST et/ou de la littérature.

#### **2.4 Anti-inflammation *in vitro***

L'évaluation en laboratoire de la capacité anti-inflammatoire a été réalisée à l'aide du test de dénaturation de l'albumine de l'œuf, avec quelques modifications selon la méthode décrite par Le but de ce test était de vérifier si l'extrait d'huile de notre plante peut inhiber la dénaturation des protéines, un processus associé à l'inflammation.

Pour ce test, le blanc d'œuf a été délicatement extrait d'œufs de poule frais, en particulier d'œufs pondus le même jour. Un mélange réactionnel de 5 ml a été préparé en mélangeant 0,2 ml d'albumine fraîche avec 2,8 ml de solution saline tamponnée au phosphate et 2 ml d'extrait de différentes concentrations. Le mélange a été incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis chauffé à 70°C pendant 5 minutes. Après refroidissement du mélange sous l'eau courante et essorage, l'absorbance a été mesurée à 660 nm. Le diclofénac sodique a été utilisé comme médicament de référence. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation, qui sert d'indicateur de l'activité anti-inflammatoire (**Benali *et al.*, 2023**).

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [1 - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs Blanc}) / (\text{Abs Contrôle non traité} - \text{Abs Blanc})] \times 100$$

#### **2.5. Test toxicité**

Un test dose-réponse a été réalisé pour des doses croissantes des extraits (huile d'El Oued et huile de Souk Ahras 100, 200, 400 et 800 mg/ml).

Les rats ont été administrés et laissés pendant 14 jours, puis sacrifiés par anesthésie au chloroforme et dissection abdominale pour retirer le foie afin de déterminer la toxicité.

## 2.6. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *In vivo*

La partie aérienne de la plante (tiges et feuilles) est récoltée dans les régions d'El Oued et Souk Ahras, lavée et séchée à l'ombre. L'huile est extraite du matériel végétal à l'aide d'un appareil Clevenger.

Œdème de la patte de rat induit par la carragénine L'œdème a été induit dans la patte arrière droite de souris en injectant 0,2 ml de carragénine à 1 % (p/v) dans une solution saline par voie sous-cutanée dans la face plantaire de la patte arrière droite des souris.

Le diamètre de la patte a été mesuré, Avant l'injection de carragénine, puis toutes les heures jusqu'à 4 fois, puis 24 heures plus tard.

Les souris ont été divisées au hasard en quatre groupes (n=12). Le premier groupe (groupe témoin) a reçu une solution saline normale ( 3ml/kg de poids corporel par voie orale), tandis que le second groupe a reçu le médicament anti-inflammatoire standard diclofénac (25 mg/kg de poids corporel par voie orale).

Troisième groupe a été traité avec un extrait d'huile de romarin de Souk Ahras (140 mg/kg de poids corporel par voie orale).

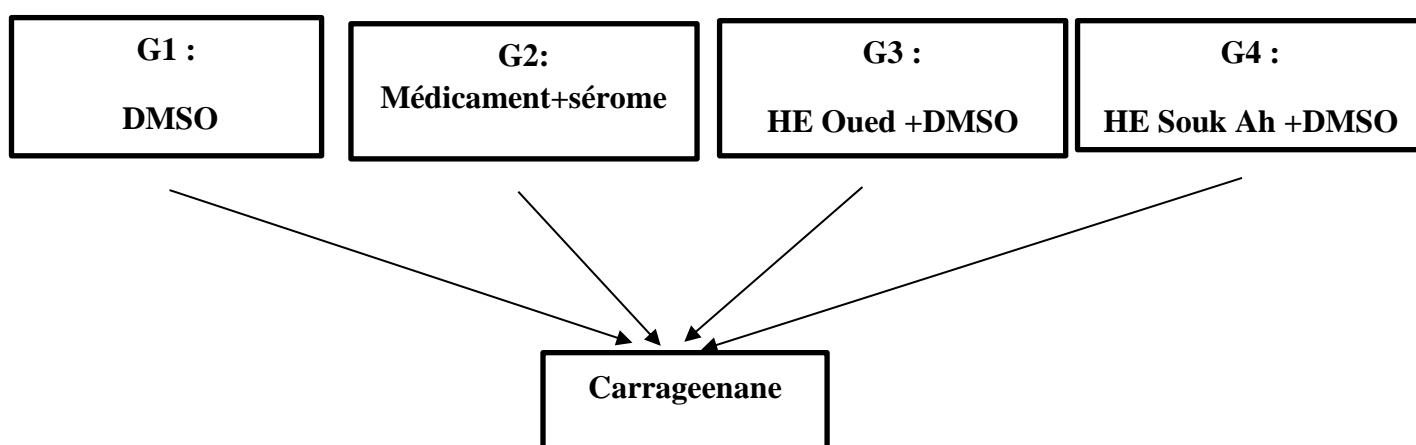
Le quatrième groupe a été traité avec un extrait d'huile de romarin d'Oued (140 mg/kg de poids corporel par voie orale) (**Azza et Oudghiri., 2015**).

Les animaux ont été traités une heure avant l'administration de la carragénine

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème a été calculé comme suit de l'œdème a été

Calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'œdème} = \text{Augmentation moyenne de l'œdème dans le groupe témoin} - \frac{\text{Augmentation moyenne de l'œdème dans le groupe traité} \times 100}{\text{Augmentation moyenne de l'œdème dans le groupe témoin}}$$



## 2.7. Évaluation de l'activité anticulcèreuse (gastro protectrice) *In vivo*

### 2.7.1. Préparation des solutions de l'extrait

Des solutions de différentes concentrations ont été préparées pour déterminer les concentrations idéales d'extrait d'huile de romarin pour les deux différentes régions. 140 mg ont été mélangés dans un volume de 3,5 ml de DMSO divisé en trois doses.

### 2.7.2. Préparation du contrôle positive (Oméprazole)

Pour préparer la solution du contrôle positive une quantité de 20 mg d'Oméprazole, est dissout dans un volume de 5 ml d'Sérum.

Les rats ont été mis à jeun pendant 24 heures avant l'expérimentation mais. La répartition des rats a été faite en Cinq lots de 3 rats pour chacun. Les solutions ont été administrées par voie intra-gastrique avec une sonde de gavage de 1ml.

De l'eau physiologique a été administrée au premier groupe et du DMSO au deuxième groupe, tandis que le troisième groupe a reçu de l'oméprazole, le quatrième groupe de l'huile de romarin (El Oued) et le cinquième groupe de l'huile de romarin (Souk Ahras).

### 2.7.3. Induction de l'ulcère gastrique par l'éthanol

Une heure plus tard ulcères ont été induits par gavage intra-gastrique de l'éthanol à 98% avec une dose de 1ml.



Deux heures après l'administration l'éthanol, les rats ont été sacrifiés une dissection ventro-médiane est effectuée pour le prélèvement des estomacs, en subissant une ouverture selon la grande courbure. Ces derniers sont lavés avec de l'eau physiologique froide (NaCl à 0,9%), et les observations ont été réalisées à l'œil nu et à l'aide d'une loupe binoculaire. Les estomacs prélevés ont été conservés dans le formol (10%) afin d'étudier l'histopathologie ulcéreuse.

### 2.8. Étude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de différentes concentrations d'huile (500, 250 et 130 mg) dilué dans DMSO, a été évaluée par la méthode de diffusion sur agar (Treki *et al.*, 2009). Cette technique est basée sur l'apparition d'une zone d'inhibition dans le milieu de culture pour quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* et *Micrococcus* autour du disque contenant l'extrait d'huile et l'antibiotique (AX10-GEN10) (Bssaibis *et al.*, 2009).

### 2.8.1. Préparation des dilutions de l'extrait (concentration)

Différentes concentrations de 500 mg, 250 mg et 130 mg ont été mélangées dans le DMSO de l'extrait d'huile de romarin des deux régions.

Les disques sont préparés à partir de papier Whatman d'un diamètre de 6 mm Ils sont ensuite placés dans un tube à essai, stérilisés et stockés jusqu'à utilisation (**Meddour et al., 2013**).

### 2.8.2. Préparation du milieu de culture

38 g de Mueller Hinton ont été préparés et dissous dans 500 ml d'eau distillée à l'aide d'une plaque chauffante.

Le milieu de culture (Mueller Hinton) est autoclavé pendant 60 minutes à 121°C, puis versé dans des boîtes de Pétri de 4 mm de haut et laissé quelques minutes pour se solidifier (**Handore, 2012**).

A partir d'une culture pure de la bactérie à tester sur le milieu d'isolement, prélever quelques colonies bien isolées et bien appariées à l'aide d'un anneau de platine

Vider l'anneau dans 3 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % et homogénéiser soigneusement la suspension bactérienne.

L'ensemencement doit être réalisé quelques minutes après la préparation de l'inoculum (**Djelloul- daouadji, 2010**).

- ✓ La culture se fait en milieu stérile en présence d'un bec benzénique.
- ✓ Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (ceci évite la contamination du processeur et du siège).
- ✓ Presser l'écouvillon en l'appuyant fermement, en le tournant contre la paroi interne du tube, afin d'en évacuer le maximum.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur toute la surface sèche de l'agar, de haut en bas.
- ✓ Répéter l'opération deux fois en faisant tourner la boîte de Pétri de 60 degrés à chaque fois, sans oublier de retourner l'écouvillon sur lui-même. Terminez l'inoculation en passant l'écouvillon sur le bord de la gélose.
- ✓ Déposer les disques sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile avec un brûleur à essence (6 disques d'extrait (3 d'huile d'Oued et 3 d'huile de Souk Ahras), 2 disques d'antibiotique et 1 disque de DMSO) (**Figure 07**) (**Djelloul- daouadji, 2010**).

Après incubation 18-24 heures à 37°C dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition (**Boudjouref, 2011**).



**Figure 08:** Antibiotiques utilisés dans le test (photo Originale, 2024).



