



الشعبية الديمقراطية الجزائرية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

*Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire : قسم :*

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master*

*Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Spécialité : Biochimie appliquée*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation de l'activité antioxydante et l'effet  
immunomodulateur de l'extrait aqueux des plantes *Rosmarinus*  
*officinalis* et *Syzygium aromaticum*

Présenté par : DREIBINE Manal

Le : 24/06/2025

CHELOUCHE Esma Darine

Jury d'évaluation :

Président : Mr NECIB YOUSSEF (Pr- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Melle BAHI AHLEM (MC-A- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinateur : Melle DJEMAI ZOUGHLACHE SOUMIA (MA-A- U Constantine 1 Frères Mentouri)

Année universitaire

2024 - 2025



# *Remerciement*

# Remerciement

Tout d'abord, nous remercions ALLAH tout-puissant de nous avoir donné la patience, la force et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur Mme BAHI AHLAM pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, pour sa gentillesse, sa disponibilité, son aide avec les connaissances qu'elle a pu nous transmettre, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les membres de jury Mr NECIB YOUSSEF et Mme DJEMAI ZOUGHLACHE SOUMAYA pour leur temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail.

Merci à tous les membres du département de biochimie et biologie cellulaire et moléculaire, à tous les responsables du bloc de science, les responsables du laboratoire de microbiologie appliquée et l'animalerie de Chaabat Ersas, à l'équipe du Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques ALI MENDJLI pour leur aide, les précieuses informations qu'elles ont partagées avec nous et leur grande patience.

Nous adressons nos remerciements aussi à tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à ce travail sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours universitaire.



# *Dédicace*

# Dédicace

Avec une immense gratitude et une profonde affection, je dédie ce travail à ceux qui ont été ma source d'inspiration, de soutien et d'encouragement tout au long de mon parcours.

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu qui m'a guidée jusqu'à l'accomplissement de ce parcours.

**À ma mère, Chérifi Hanane, à mon père, Chelouche Lazhar...**

Depuis mon enfance, je rêvais de porter la tenue de soutenance, juste pour voir le regard de fierté brille dans vos yeux. Le destin a voulu que je perde un morceau de mon cœur avant de réussir mon rêve. Baba, j'avance jour après jour dans un monde où tu n'es plus. Tu m'as quittée au début de ce chemin, si je suis arrivée jusqu'ici, c'est grâce à toi. Malgré la blessure, j'ai toujours dit : je veux que mon père soit fier de moi, et je l'ai fait, je l'ai accomplie. Ta fille est diplômée aujourd'hui, je suis certaine du cœur que tu es fier de moi, là où tu es.

**À mes sœurs, Malak et Manel...**

Nous avons traversé la douleur ensemble, main dans la main, pleuré ensemble, ri ensemble, et toujours été le pilier l'une pour l'autre, je ne trouve pas de moment plus beau que celui-ci pour vous dire merci.

**Nemmour Djihane Khengui Rihab Dreibine Manal**

Dieu m'a aimée au point où il m'a envoyée trois amies, ou devrais-je dire trois sœurs l'exemple vivant de la vraie amitié.

À toute ma grande famille, chaque membre d'entre vous a laissé une empreinte dans mon cœur. Je vous adresse toute ma gratitude et mes remerciements, un par un.

**À mes tantes, Amel et Soumiya la source de la tendresse**

**Sofiane, Hmeida, Adel, Minou, Aymen** l'exemple de la véritable fraternité

**Sana** ma jumelle souriante, **Yasmine, Imen, Khadidja** mes sœurs adorables

**Les petits: Nesrine, Serine, et Anes**

Aujourd'hui, je ne célèbre pas seulement un diplôme, je célèbre ma force, ma résilience, et la femme que je suis devenue.....Une femme qui a transformé la douleur en succès.

**Darine**

# Dédicace

2008

2025

**Ce parcours est terminé**

**Du profond de mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers**

**Mes chers parents Ahmed Dreibile et Sahli Ratiba**

Qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect ; mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

**Mes sœurs et mon frère Marwa Meriem Lokmane**

Mes compagnons de vie et de cœur, qui ont su m'apporter force, soutien et réconfort tout au long de ce parcours. Vos encouragements et votre présence m'ont été une source précieuse de motivation.

**Ma famille du côté paternel comme du côté maternel**

À ceux qui m'ont vu grandir, qui m'ont encouragé et soutenu sans faille. À mes grands-parents, mes oncles surtout Arabe et Fayçel , mes tantes surtout Rana.

**À mes chères amies Chelouche Esma darine Nemmour Djihane**

Compagnons de joie, de soutien et de rires. Vous avez été là dans les moments de doute comme dans les instants de réussite.

**Manal**

## **Résumé :**

L'impact du stress oxydatif et de la perturbation du système immunitaire est de plus en plus reconnu dans la genèse de nombreuses maladies. Ce problème a stimulé un intérêt accru pour l'étude des plantes médicinales contenant des molécules aux propriétés biologiques. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante et l'impact des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* sur la modulation du système immunitaire, afin de mieux comprendre leur potentiel thérapeutique.

Les extraits aqueux de ces plantes ont été préparés et soumis à différents tests in vitro et in vivo. Une analyse quantitative basée sur le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes, et des tanins a révélé une richesse remarquable en composés bioactifs pour la plante *Syzygium aromaticum* dont les valeurs sont : polyphénols totaux ( $73.62 \pm 10.7$ ), les flavonoïdes ( $13.88 \pm 2.9$ ) et les tanins ( $0.017 \pm 0.001$ ) surpassant largement celle de *Rosmarinus officinalis* dont les valeurs sont : polyphénols totaux ( $71.8 \pm 12.6$ ), les flavonoïdes ( $8.42 \pm 0.9$ ) et les tanins ( $0.014 \pm 0.001$ ).

L'évaluation du potentiel antioxydant a été effectuée par deux méthodes in vitro : FRAP, DPPH. Les données obtenues soulignent le potentiel antioxydant important de la plante *Syzygium aromaticum* justifiant son intérêt dans la prévention des désordres liés au stress oxydatif. Cette activité est attribuée probablement à sa richesse en composés phénoliques.

In vivo, l'effet immunomodulateur de *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* a été évalué à l'aide d'un modèle murin. Les extraits aqueux des deux plantes ont été administrés à des souris à deux doses distinctes (25 mg/kg et 50 mg/kg). L'évaluation portée sur l'activité phagocytaire,  $t_{1/2}$  et le poids des organes actifs suggère que le girofle possède un effet immunomodulateur plus puissant.

En conclusion, la plante médicinale *Syzygium aromaticum* semble plus efficace que *Rosmarinus officinalis* en raison de sa capacité antioxydante accrue et son rôle notable dans la régulation des réponses immunitaires et sa richesse en composés actifs, tout cela rend la plante prometteuse pour l'usage thérapeutique.

## **Mots clé :**

Stress oxydatif, Polyphénols totaux, Flavonoïdes, Tanins, Effet immunomodulateur, Antioxydante, *Rosmarinus officinalis*, *Syzygium aromaticum*, Composés actifs.

## **Abstract:**

The impact of oxidative stress and immune system dysfunction is increasingly recognized in the development of various diseases. This concern has stimulated growing interest in studying medicinal plants containing bioactive molecules. The aim of this study is to assess the antioxidant activity and the immunomodulatory effect of *Rosmarinus officinalis* and *Syzygium aromaticum*, in order to better understand their therapeutic potential.

Aqueous extracts of both plants were prepared and subjected to various in vitro and in vivo tests. Quantitative analysis based on the measurement of total polyphenols, flavonoids, and tannins revealed a remarkable richness in bioactive compounds in *Syzygium aromaticum*, with values as follows: total polyphenols ( $73.62\pm10.7$ ), flavonoids ( $13.88\pm2.9$ ), and tannins ( $0.017\pm0.001$ ), clearly surpassing those of *Rosmarinus officinalis*: total polyphenols ( $71.8\pm12.6$ ), flavonoids ( $8.42\pm0.9$ ), and tannins ( $0.014\pm0.001$ ).

Antioxidant potential was evaluated using two in vitro methods: FRAP and DPPH. The obtained data highlight the strong antioxidant capacity of *Syzygium aromaticum*, justifying its relevance in preventing disorders related to oxidative stress. This activity is likely due to its high content of phenolic compounds.

In in vivo experiments, the immunomodulatory effect of both *Rosmarinus officinalis* and *Syzygium aromaticum* was evaluated using a murine model. Aqueous extracts were administered to mice at two different doses (25 mg/kg and 50 mg/kg). The evaluation of phagocytic activity, half-life, and the weight of immune organs suggests that *Syzygium aromaticum* exhibits a more potent immunomodulatory effect.

In conclusion, *Syzygium aromaticum* appears to be more effective than *Rosmarinus officinalis*, due to its enhanced antioxidant capacity, notable role in immune response regulation, and richness in active compounds, making it a promising candidate for therapeutic use.

## **Keywords:**

Oxidative stress, Total polyphenols, Flavonoids, Tannins, Immunomodulatory effect, Antioxidant, *Rosmarinus officinalis*, *Syzygium aromaticum*, Active compounds.

## ملخص

يُعد تأثير الإجهاد التأكسدي واضطراب الجهاز المناعي عاملين متزايدِي الأهمية في نشأة العديد من الأمراض. وقد حُفِّز هذا الوضع اهتماماً متزايداً بدراسة النباتات الطبية التي تحتوي على جزيئات ذات خصائص بيولوجية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة وكذلك تأثير نباتي *Syzygium aromaticum* و *Rosmarinus officinalis* على تعديل الجهاز المناعي، من أجل فهم أفضل لإمكانياتهما العلاجية.

تم تحضير مستخلصات مائية من هذين النباتين وإخضاعها لاختبارات مختلفة حية ومخبرية. كشفت التحاليل الكمية المستندة إلى قياس البولي فينولات الكلية، الفلافونويدات، والثانينات عن غنى ملحوظ بالمركبات النشطة بيولوجياً في نبات *Syzygium aromaticum*، حيث بلغت القيم: البولي فينولات الكلية ( $10.7 \pm 73.62$ )، الفلافونويدات ( $2.9 \pm 13.88$ )، والثانينات ( $0.001 \pm 0.017$ )، متباينة بوضوح تلك الخاصة بـ *Rosmarinus officinalis* التي بلغت البولي فينولات الكلية ( $12.6 \pm 71.8$ )، الفلافونويدات ( $0.9 \pm 8.42$ )، والثانينات ( $0.001 \pm 0.014$ ).

تم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام طريقتين مخبرياً (DPPH و FRAP)، وقد أبرزت البيانات المحصل عليها النشاط القوي المضاد للأكسدة لنبات *Syzygium aromaticum*، مما يبرر أهميته في الوقاية من الاضطرابات المرتبطة بالإجهاد التأكسدي، ويعزى هذا النشاط غالباً إلى غناه بالمركبات الفينولية.

في التجارب الحية، تم تقييم التأثير المناعي لنباتي *Syzygium aromaticum* و *Rosmarinus officinalis* باستخدام نموذج تجريبي على الفئران. تم إعطاء المستخلصات المائية للنباتين بجرعتين مختلفتين (25 ملغر/كغ و 50 ملغر/كغ)، وأظهرت التقييمات التي شملت النشاط البلعمي، ونصف عمر التصفية، وزن الأعضاء المناعية، أن القرنفل يمتلك تأثيراً مناعياً أقوى.

خلاصة، يبدو أن النبات الطبي *Rosmarinus officinalis* أكثر فعالية من *Syzygium aromaticum* بفضل قدرته العالية على مقاومة الأكسدة، ودوره الملحوظ في تنظيم الاستجابات المناعية، وغناه بالمركبات النشطة، مما يجعله نباتاً واعداً للاستخدام العلاجي.

## كلمات مفتاحية

الإجهاد التأكسدي، البولي فينولات الكلية، الفلافونويدات، الثانينات، التأثير المعدل للمناعة، مضاد للأكسدة، إكليل الجبل، القرنفل، المركبات النشطة.

## **Table des matières :**

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des photos	
Liste des abréviations	
Introduction générale .....	1

## **Recherche bibliographique**

### **Chapitre1**

I. Stress oxydatif.....	2
I.1 La définition.....	2
I.2 Les radicaux libres.....	2
I.2.1 Définition.....	2
I.2.2 Les types des radicaux libres.....	2
I.2.3 Les sources des radicaux libres .....	4
I.3. Les antioxydants .....	4
I.3.1 Définition.....	5
I.3.2 Types d'antioxydants.....	5
II. Les polyphénols.....	8
II.1. La définition.....	8
II.2. La biosynthèse.....	8
II.3. Classification des composés phénoliques.....	8
II.3.1 Les acides phénoliques.....	11
II.3.2 Les flavonoïdes .....	12
II.3.3 Les stilbènes.....	13
II.3.4 Les lignanes .....	13
II.3.5 Les tanins.....	14

### **Chapitre II : Les plantes**

I. Clou de girofle.....	15
I.1 La définition.....	15
I.2 Origine.....	17
I.3 Composition chimique.....	17
I.4 Position systématique du <i>Syzygium aromaticum</i> .....	18
I.5 Les utilisations .....	19

I.6 L'activité antioxydante .....	19
I.7 L'effet immunomodulateur.....	19
II. Le romarin.....	20
II.1 La définition.....	20
II.2 Répartition géographique .....	21
II.3 Classification.....	22
II.4 Les composants phytochimiques.....	22
II.5 l'activité antioxydante du romarin.....	23
II.6 L'effet immunomodulateur du romarin.....	23
II.7 Utilisations.....	23

### **Etude expérimentale**

#### **Chapitre 1 : Matériel et Méthode**

I. Matériel .....	25
I.1 Le matériel végétal.....	25
I.2 Le matériel animal.....	26
II. Méthode.....	26
II.1 Séchage, broyage et conservation du matériel végétal.....	26
II.2 Préparation de l'extrait aqueux.....	28
II.3 Evaporation et lyophilisation de l'extrait aqueux.....	29
II.4 Analyse quantitative de l'extrait AQ des deux plantes Rosmarinus officinalis et Syzygium aromaticum.....	31
II.4.1 Dosage des polyphénols totaux.....	31
II.4.2 Dosage des flavonoïdes.....	31
II.4.3 Dosage des tanins condensés.....	31
II.5 Les tests de l'activité antioxydante.....	31
II.5.1 Test du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP).....	31
II.5.2 Test du pouvoir anti oxydant par la capacité de piégeage du radical libre DPPH.....	32
II.6 Evaluation de l'effet immunomodulateur.....	33
II.6.1 L'élevage des souris.....	33
II.6.2 le protocole expérimental.....	34
II.6.3 Mesure de l'activité phagocytaire .....	35

II.6.4 L'analyse statistique.....	35
<b>Chapitre 2 : Résultats et discussion</b>	
I. Résultats.....	36
I .1. Les tests biologiques réalisés in vitro .....	36
I.1.1 Analyse quantitative de l'extrait aqueux des plantes <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> .....	36
I.1.2 Evaluation du potentiel antioxydant.....	37
I.1.2.1 Test du pouvoir réducteur FRAP.....	37
I.1.2.2 Test de l'activité scavenger du radical DPPH.....	38
I.2 Les tests biologiques réalisés in vivo .....	39
I.2.1 L'effet d'extrait du <i>Syzygium Aromaticum</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> sur l'activité phagocytaire.....	39
I.2.2 L'effet d'extrait du <i>Syzygium Aromaticum</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> sur le temps de demi-vie $t^{1/2}$ .....	40
I.2.3 L'effet des extraits de <i>Syzygium Aromaticum</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ).....	41
II. discussion.....	42
II.1 Les tests biologiques réalisés in vitro.....	42
II.2 Les tests biologiques réalisés in vivo .....	44
Conclusion et prescriptive .....	47
Annexes .....	48
Référence bibliographique .....	52



# *Liste des figures*

## **Liste des figures :**

### **Nº de figure .....Titre de figure**

<b>Figure 1</b> : Déséquilibre de la balance entre oxydant et antioxydant.....	2
<b>Figure 2</b> : L'affection d'une cellule saine par les radicaux libres.....	3
<b>Figure 3</b> : Les aliments riches par les antioxydants.....	5
<b>Figure 4</b> : Structure du noyau phénol.....	9
<b>Figure 5</b> : Structure chimique des acides hydroxybenzoïques.....	11
<b>Figure 6</b> : Structure chimique des acides hydroxycinnamiques.....	11
<b>Figure 7</b> : La structure générique des flavonoïdes.....	12
<b>Figure8</b> : Structures chimiques des sous-classes de flavonoïdes.....	12
<b>Figure 9</b> : La structure de base des stilbènes.....	13
<b>Figure10</b> : La structure des tanins hydrolysables et condensés.....	14
<b>Figure 11</b> : Arbre d'un <i>Syzygium aromaticum</i> .....	15
<b>Figure 12</b> : Les bourgeons de fleurs du <i>Syzygium aromaticum</i> .....	16
<b>Figure 13</b> : Les clou de <i>Syzygium aromaticum</i> séchés.....	16
<b>Figure 14</b> : Carte géographique des principaux producteurs de <i>Syzygium aromaticum</i> du monde.....	17
<b>Figure 15</b> : Les principaux composants chimiques du <i>Syzygium aromaticum</i> .....	17
<b>Figure 16</b> : Structure principale de l'eugénol.....	18
<b>Figure 17</b> : les fleurs, les feuilles et l'huile de romarin.....	21
<b>Figure 18</b> : Répartition géographique de <i>Rosmarinus officinalis</i> selon GBIF .....	21
<b>Figure 19</b> : Structure chimique de trois composés majeurs présents chez <i>R. officinalis</i> .....	23
<b>Figure 20</b> : <b>a.</b> Photo original de la plante <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	25
<b>b.</b> La localisation géographique du lieu de récolte.	
<b>Figure 21</b> : Séchage et broyage des plantes <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> .....	27
<b>Figure 22</b> : Préparation de l'extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> .....	28
<b>Figure 23</b> : Courbe représentatrice des différentes étapes de la lyophilisation.....	30
<b>Figure 24</b> : Equation du radical DPPH transformé en DPPH. ....	32

<b>Figure 25</b> : Plan expérimental suivi pour l'évaluation de l'effet immunomodulateur de l'extrait des plantes <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> .....	34
<b>Figure 26</b> : Teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins ( $\mu\text{g Eq standard/ mg}$ ) de l'extrait aqueux des plantes <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> .....	36
<b>Figure 27</b> : réduction du fer de l'extrait aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	37
<b>Figure 28</b> : réduction du fer de l'extrait aqueux de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	38
<b>Figure 29</b> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH des extraits aqueux de <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Syzygium aromaticum</i> .....	39
<b>Figure 30</b> : L'effet des extraits de <i>Syzygium Aromaticum</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur l'index phagocytaire K dans le test de l'injection du carbone chez les souris.....	39
<b>Figure 31</b> : L'effet des extraits de le <i>Syzygium Aromaticum</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur le taux de clearance.....	40
<b>Figure 32</b> : L'effet des extraits de <i>Syzygium Aromaticum</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ).....	41



*Liste des  
tableaux*

## ***Liste des tableaux :***

### **Nº du tableau .....Titre du tableau**

<b>Tableau1</b> : Principales classes des composés phénoliques.....	9
<b>Tableau 2</b> : position systématique de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	18
<b>Tableau 3</b> : La classification scientifique de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	22



*Liste des  
photos*

## ***Liste des photos :***

### **Nº de photo .....Titre de photo**

<b>Photo 1 :</b> La plante de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	20
<b>Photo 2 :</b> Des bourgeons floraux de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	25
<b>Photo 3 :</b> Souris de la race Albinos.....	26
<b>Photo 4 :</b> Évaporateur rotatif (Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques ALI MENDJLI) .....	29
<b>Photo 5 :</b> Le Lyophilisateur (Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutique ALI MENDJLI) .....	30
<b>Photo 6 :</b> L'extrait des plantes dans des boites de pétrie après la lyophilisation.....	30
<b>Photo 7 :</b> Les souris de notre expérimentation.....	33



*Liste des  
abréviations*

## ***Liste des abréviations :***

SO : Stress oxydatif

EOA : Les espèces oxygénées activées.

ERO : Les espèces réactives de l'oxygène.

ERA : Les espèces réactives de l'azote.

$O_2^{\cdot-}$  : Le radical super-oxyde.

$H_2O_2$  : Le peroxyde d'hydrogène.

$ClO^-$  : L'ion hypochlorite.

$HO^{\cdot}$  : Le radical hydroxyle.

$ROO^{\cdot}$  : Les radicaux peroxyde.

$RO^{\cdot}$  : Alkoxyle.

$ONOO^{\cdot}$  : Le peroxynitrite.

$NO^{\cdot}$  : Le monoxyde d'azote.

${}^1O_2$  : L'oxygène singulet.

NADPH : Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydé.

TNF-alpha : Facteur de Nécrose Tumorale alpha.

SOD : La super-oxyde dismutase.

GPX : La glutathion peroxydase.

CAT : La catalase.

GSH : glutathion.

OH : hydroxyl.

LPS : Lipopolysaccharide.

IgM : Immunoglobuline M.

IgG : Immunoglobuline G.

l'IL-1 $\beta$  : Interleukine 1 bêta.

l'IL-8 : Interleukine 8.

Fe+3 : ion ferrique.

Fe+2 : ion ferreux.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle).

H3PW12O40 : acide phosphotungstique.

H3PMo12O40 : acide phosphomolybdique.

CO : groupe carbonyle.

FRAP : Ferric reducing antioxidant power.

G1 : groupe témoin.

G2 : groupes traités par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* 25(mg/kg).

G3 : groupes traités par l'extrait de *Rosmarinus officinalis* 50(mg/kg).

G4 : groupes traités par l'extrait de *Syzygium aromaticum* 25(mg/kg).

G5 : groupes traités par l'extrait de *Syzygium aromaticum* 50(mg/kg).

T1/2 : demi de vie.

min : Minute.

Kg : Kilogramme.

DO : Densité Optique.

CE50 : concentration efficace à 50 %.

IC50 : concentration d'inhibition à 50 %.

mg /ml : Milligramme/ Millilitre.

Mg/kg : Milligramme/ Kilogramme.

R-25mg/kg : *Rosmarinus officinalis* 25(mg/kg).

R-50mg/kg : *Rosmarinus officinalis* 50(mg/kg).

G-25mg/kg : *Syzygium aromaticum* 25(mg/kg).

G-50mg/kg : *Syzygium aromaticum* 50(mg/kg).

µg EAG/mg : Microgrammes d'équivalent acide gallique par milligramme.

mg EQ/g : Milligrammes d'équivalent quercétine par gramme.

µg/ml : Microgrammes par millilitre.

TNF : Facteur de Nécrose Tumorale.

PGE-2 : Prostaglandine E2.

COX-2 : Cyclooxygénase-2.

d'IFN-γ : Interféron gamma.

TGF-β : Facteur de croissance transformant bêta.

ASAT : Aspartate Aminotransférase.

ALAT : Alanine Aminotransférase.

PAL : Phosphatase Alcaline.

GR : Glutathione Réductase.

GST : Glutathion-S-Transférase.

PC : Cyclophosphamide.

AlCl<sub>3</sub>: Trichlorure d'aluminium

GBIF: The Global Biodiversity Information Facility



# *Introduction générale*

## *Introduction générale*

---

En biologie, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est un processus physiologique régulé, mais lorsqu'elle devient excessive, elle entraîne un stress oxydatif (SO), c'est-à-dire un déséquilibre entre la production de radicaux et les défenses antioxydants de l'organisme (**Juan et al., 2021**). Parmi ces défenses, on distingue les antioxydants non enzymatiques (caroténoïdes, tocophérols, polyphénols, glutathion) et enzymatique telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPX). Une accumulation prolongée d'ERO dans les cellules peut causer une production en chaîne, touchant gravement les protéines, lipides et les acides nucléiques (**Bešlo et al., 2023 ; Wu et al., 2013**).

D'autre part, le système immunitaire humain joue un rôle fondamental dans la protection contre les agents pathogènes. La modulation de la réponse immunitaire représente donc une voie thérapeutique potentielle dans le traitement de diverses pathologies liées à l'immunodéficience (**Khodadadi, 2015**). C'est pourquoi les immunomodulateurs naturels, en particulier ceux d'origine végétale, sont de plus en plus considérés comme des alternatives prometteuses (**Jantanet al., 2019 ; Parveen et al., 2021**). La phytothérapie, utilisée depuis l'Antiquité, reste aujourd'hui un pilier de la médecine traditionnelle, utilisant les plantes sous forme d'infusions, d'extraits ou de préparations pharmaceutiques contenant des composés actifs (**Andrade et al., 2018**).

L'Algérie, en particulier, possède une biodiversité floristique remarquable, comprenant environ 4000 taxons, 917 genres et 131 familles (**Benarba et Belhouala, 2021**). Parmi ces plantes, on retrouve le romarin (*Rosmarinus officinalis*), une espèce de la famille des Lamiacées, connue pour sa richesse en polyphénols et ses activités antioxydantes (**Botsoglou et al., 2010 ; Benincá et al., 2011**). De plus, les contenus polyphénoliques de l'extrait de RM contribuent au renforcement global de la réponse immunitaire (**Collett et al., 2004, Kunnumakkara et al., 2007**). Une autre plante médicinale d'intérêt est le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), appartenant à la famille des Myrtacées. Cette plante, particulièrement riche en eugénol, présente une forte activité antioxydante, comparable à celle des antioxydants synthétiques (**Mittal et al., 2014**).

L'étude des plantes médicinales aux propriétés antioxydantes et immunomodulatrices représente un enjeu de recherche fondamental. C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail, qui vise à explorer le potentiel antioxydant des *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium Aromaticum* *in vitro* et leur capacité à moduler la réponse immunitaire *in vivo*.

Afin de réaliser cette étude, le travail est divisé en quatre chapitres :

- Le premier chapitre traite le stress oxydatif et les antioxydants, ainsi que les composés phénoliques
- Le deuxième chapitre est consacré à l'étude botanique de *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium Aromaticum*, la classification, leur Répartition géographique, leur utilisation traditionnelle et l'effet antioxydants et immunomodulateur.
- Deux autres chapitres comportent matériels et méthodes, les résultats et la discussion.
- Enfin, une conclusion qui résume notre travail et les résultats obtenu.



# *Recherche bibliographique*



# *Chapitre 1*

## *Partie 1: stress oxydatif*

## I-Stress oxydatif:

### I-1-Définition :

Le stress oxydant se caractérise par une altération de l'équilibre entre la génération d'espèces radicalaires et les capacités antioxydantes des cellules. Ce déséquilibre est engendré soit par une surproduction d'oxydants (comme c'est souvent le cas lors du vieillissement), soit par une réduction des capacités antioxydantes (observée chez les individus obèses et les fumeurs) (**Migdal et Serres, 2011**).

Pendant longtemps, les EOA ont été perçues comme des résidus toxiques issus du métabolisme normal de l'oxygène et associés à diverses maladies. Cependant, depuis quelques années, la génération maîtrisée de radicaux libres est reconnue comme un processus essentiel de communication cellulaire qui favorise la restauration de l'homéostasie cellulaire (**Mazat et Ransac, 2010 ; Haleng et al., 2007**).

Ces dérèglements métaboliques varient en fonction de l'organe ou du type de cellule affectée, du niveau et de la nature des produits radicaux libres, ainsi que des facteurs génétiques particuliers à chaque individu, leur mode de vie, la situation physiopathologique et les influences environnementales.



Figure 1 : Déséquilibre de la balance entre oxydant et antioxydant. (1)

### I-2-Les radicaux libres :

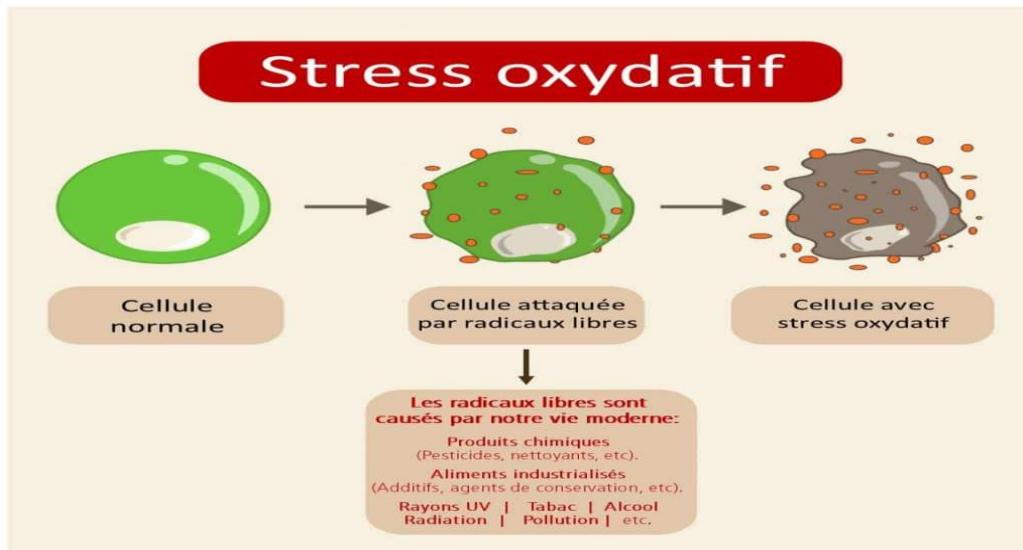
#### I-2-1-Définition :

Un radical libre est une entité chimique, qu'il s'agit d'un atome ou d'une molécule, qui renferme un électron non apparié. Ce composé, d'une stabilité très faible, a la capacité de réagir avec les molécules les plus stables afin d'accorder son électron (**Garait, 2006**).

Les espèces oxygénées activées (EOA) englobent à la fois les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERA) (**M'cili et Melghid, 2020**).

Trois procédés conduisent à la formation de radicaux libres (**Rouaki, F. 2016**) :

- L'ajout d'un électron libre à une espèce non radicalaire.
- Perte d'un électron par un non-radical.
- Coupe homolytique d'un lien covalent.



**Figure 2** : L'affection d'une cellule saine par les radicaux libres. (2)

Il existe de très nombreux radicaux libres, les principaux étant (**Boufenghour, F., Kamah, A. 2020**) :

- 1) Le radical super-oxyde  $O_2^{\cdot-}$
- 2) Le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$
- 3) L'ion hypochlorite  $ClO^-$
- 4) Le radical hydroxyle  $HO^{\cdot}$
- 5) Les radicaux peroxyde ( $ROO^{\cdot}$ ) et alkoxyde ( $RO^{\cdot}$ ), où R est une chaîne carbonée
- 6) Les radicaux dérivant d'acides gras insaturés
- 7) Le peroxynitrite  $ONOO^{\cdot}$
- 8) Le monoxyde d'azote  $NO^{\cdot}$
- 9) L'oxygène singulet  ${}^1O_2$ .

### **I-2-2-Les types des radicaux libres :**

#### **I-2-2-1-Les radicaux libres primaires :**

Provenance de l'oxygène par des réductions à un électron, comme l'anion super-oxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et le radical hydroxyle OH<sup>•-</sup>, ou de l'azote, tel que le monoxyde d'azote NO<sup>•</sup> (**Sid et Khelifi, 2021**).

#### **I-2-2-2-Les radicaux libres secondaire :**

Sont générés par l'interaction de radicaux primaires avec divers composés biochimiques à l'intérieur de la cellule (**Boufnghour et Kamah, 2020**).

### **I-2-3-Les sources des radicaux libres :**

Il existe deux sources principales de radicaux libres :

- La première est parfaitement naturelle et de ce fait inévitable c'est la source endogène.
- La seconde est plus artificielle et se rapporte au phénomène de la pollution c'est la source exogène.

#### **❖ Sources endogènes :**

##### **• Peroxysomes :**

Les peroxysomes constituant l'un des principaux lieux dans la cellule où les radicaux libres sont à la fois produits et capturés. Le peroxysome a un rôle essentiel dans la génération de peroxyde d'hydrogène au niveau cellulaire, produit par les oxydases qui convertissent l'hydrogène des métabolites en oxygène moléculaire. Au niveau du foie, environ 20 % de la consommation globale d'oxygène est attribué à l'action de l'oxydase paroxysmale (**Dansen, T. B., & Wirtz, K. W.2001**).

##### **• Réaction immunitaire :**

L'inflammation est également un important générateur des radicaux libres d'oxygènes issu directement du complexe enzymatique NADPH oxydase des cellules phagocytaires en activation. Cette enzyme a la capacité d'utiliser l'oxygène moléculaire pour générer une

Grande quantité d'anions super-oxyde au niveau de la membrane cellulaire, et ce processus favorise la phagocytose des éléments étrangers (**Hininger-Favier, 2003**).

En outre, les cellules inflammatoires et immunitaires ont la capacité de générer des cytokines telles que le TNF-alpha, qui peuvent induire la production de radicaux libres par les mitochondries des cellules cibles (**Hininger-Favier, 2003**).

#### **❖ Sources exogènes :**

Les facteurs externes sont principalement des agents pro-oxydants environnementaux comme les pesticides, les métaux lourds, la fumée du tabac, les polluants, la poussière (qu'elle soit d'amiante ou de silice), ainsi que les composés résultant d'une insoluation de la consommation de certains médicaments, de l'exposition au rayonnement électromagnétique (radiation ionisante, lumière ultraviolette) ou suite à une insoluation (**FAVIER ,2003**).

## **I-3-Les antioxydants :**

### **I-3-1-Définition :**

Les antioxydants sont des substances qui peuvent contrecarrer les espèces oxydantes et empêcher leurs dommages liés à l'oxydation. Chez une personne en bonne santé, il existe un équilibre entre les espèces réactives et les mécanismes de défense antioxydants, même si une accumulation progressive de dommages oxydatifs peut se produire avec l'avancée en âge (**Birben E, Sahiner UM et All**).

Il existe différentes formes d'antioxydants, parmi lesquelles :

- Vitamines : C, D, E, A.
- Oligo-éléments : le zinc, le cuivre, le sélénium.
- Caroténoïdes : ces pigments se retrouvent principalement dans les aliments de couleur jaune et orange.
- Polyphénols : ce sont des composés que l'on retrouve dans les aliments végétaux, tels que les fruits et légumes, le thé, le vin, etc. Les tanins, abondants dans le vin et aussi dans le thé, appartiennent à la catégorie des polyphénols.

Ces 4 dernières trouver principalement dans les carottes les oranges ....



**Figure 3 : Les aliments riches par les antioxydants. (3)**

### **I-3-2-Types d'antioxydants :**

Il existe 2 types d'antioxydants :

- Les antioxydants endogènes : ce sont les protéines et les polypeptides produits au sein de la cellule.
- Les antioxydants exogènes : ils sont acquis par la consommation de fruits et légumes. De plus, il est possible de se procurer des antioxydants via des compléments alimentaires commercialisés.

- **Les antioxydants endogènes :**

Les antioxydants endogènes sont produits par les cellules et englobent aussi bien les antioxydants enzymatiques que non enzymatiques.

Les antioxydants enzymatiques majeurs incluent :

- La super-oxyde dismutase (SOD).
- La glutathion peroxydase (GPX).
- La catalase (CAT).

Ces enzymes antioxydantes, en collaboration, luttent contre le stress oxydatif en neutralisant les radicaux et les espèces réactives avant qu'ils ne nuisent aux éléments de la cellule.

Dans toutes les cellules, l'antioxydant majeur non enzymatique est le « glutathion (GSH) » cet antioxydant crucial non enzymatique a la capacité d'agir à la fois comme un attrape-oxydants autonomes, mais aussi en association avec le glutathion peroxydase pour l'élimination du peroxyde d'hydrogène (un oxydant) de la cellule.

Ensemble, les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques collaborent pour défendre les cellules contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux. Il convient de souligner que la pratique régulière d'exercices d'endurance stimule l'activité des antioxydants enzymatiques dans les muscles squelettiques, accordant ainsi une protection contre le stress oxydatif lié à l'effort physique (**Powers et Jackson, 2008**). Ainsi, par rapport aux individus non entraînés, les athlètes d'endurance bien préparés ont des niveaux plus importants d'antioxydants internes dans leurs muscles squelettiques.

- **Les antioxydants exogènes :**

### **La vitamine E**

Identifie au moins huit isomères structuraux de tocophérols ou de tocotriénols (**Traber et Stevens, 2011**).

L' $\alpha$ -tocophérol, parmi ces isomères, est le plus connu et celui qui possède l'activité antioxydant la plus significative (**Janero, 1991**).

La vitamine E, qui est liposoluble, demeure l'un des antioxydants les plus abondants dans le monde naturel ; elle préserve les membranes cellulaires contre les agressions des radicaux (**Traber et Stevens, 2011**). Bien que la vitamine E soit un piège efficace pour les radicaux, son interaction avec ces derniers entraîne une diminution de son efficacité et encourage la création de radicaux de la vitamine.

### **La vitamine C « acide ascorbique »**

La vitamine C étant hydrophile, elle se trouve dans le compartiment aqueux de la cellule, tel que le cytosol.

La vitamine C, en tant qu'antioxydant, assume deux fonctions majeures : Premièrement, la vitamine C a la capacité de neutraliser divers types de radicaux (**Carr et Frei, 1999**). Deuxièmement, elle occupe une place essentielle dans le processus de recyclage de la vitamine E. Ainsi, la vitamine C et la vitamine E agissent de concert pour défendre la cellule contre les atteintes causées par les radicaux (**Traber et Stevens, 2011**).

À l'instar de la vitamine E, quelques spécialistes soutiennent que des apports excessifs en vitamine C pourraient entraîner des effets néfastes pour la santé (**Herbert, 1994**).

**Les oligo-éléments :**

Les oligo-éléments ont un rôle important, bien qu'indirect, dans la défense antioxydant des cellules. Les oligoéléments associés aux fonctions antioxydants incluent le cuivre, le zinc, le sélénium et le manganèse. Ces minéraux participent à la protection antioxydants de l'organisme en jouant le rôle de cofacteurs pour les enzymes antioxydants (**CHAPPUIS P.,1991**).



## **II-Les polyphénols:**

### **II-1-Définition:**

Les polyphénols représentent l'une des substances phytochimiques les plus répandues dans le règne végétal. Les aliments végétaux que nous consommons quotidiennement tel que les fruits, les légumes et les graines comprennent ces produits en tant que métabolites secondaires qui s'accumulent dans les feuilles et les fleurs .La composition des membres de la famille est extrêmement variée et complexe, avec des poids moléculaires qui varient entre 500 et 3000 Da (**Amawi et al.,2017 ; Hano et Tungmunnithum,2020**) .allant de molécules simples telles que les acides phénoliques à des composés fortement polymérisés comme les tanins (**Dai et Mumper ,2010**).

Les plantes produisent des polyphénols pour se défendre contre les agents biotiques tels que les bactéries, les champignons et les insectes, ainsi que face à des stress abiotiques comme le stress environnemental, les radicaux libres ou les dysfonctionnements métaboliques. Il existe plus de 8000 variétés différentes dans la catégorie complexe des polyphénols. Selon différents critères, ils sont classés en fonction de la présence d'une ou plusieurs structures phénoliques et d'un ou plusieurs groupes substituants liés à l'hydroxyle (OH). La diversité des polyphénols est due à ces arrangements structuraux. Du fait de leur structure particulière et d'interactions biologiques variées, les polyphénols sont connues pour leur gamme variée de propriétés biologiques, y compris antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antibactériennes et anti-âge, ainsi que la consommation de fruits, de légumes, de graines et de noix a été associée à des risques plus faibles de maladies métaboliques, cardiovasculaires, neurodégénératives et cancéreuses (**Bolat et al.,2024**).

Un encouragement à la consommation d'aliments végétaux riches en composés phénoliques est désormais l'une des recommandations majeures en matière de santé publique. Dans le domaine des antioxydants d'origine végétale, les composés phénoliques se distinguent par leur efficacité protectrice pour l'organisme (**Gee et Johnson,2001**).

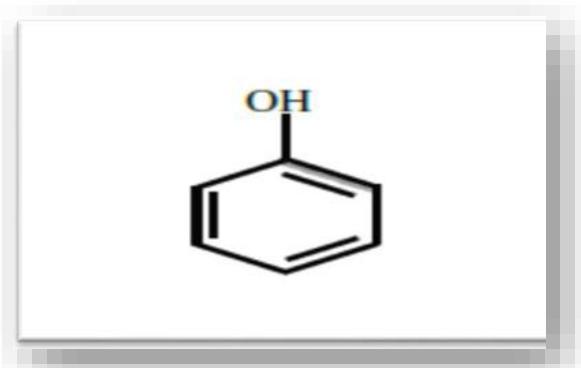
### **II-2-Biosynthèse :**

Les phénols contiennent des cycles aromatiques qui proviennent de deux processus métaboliques (la cyclogenèse) : le premier implique l'acide shikimique (voie shikimate), tandis que le second utilise l'acide acétique (voie polyacétate ou des polycétides). Par ailleurs, certains phénols sont le résultat de la fusion de ces deux procédés (voie mixte). On peut donc classifier les phénols en fonction de leur processus de synthèse, ou selon les substances intermédiaires d'où ils dérivent et qui sont le produit de ces processus (**Elie,2022**).

### **II-3-Classification des composés phénoliques:**

La classification des polyphénols repose principalement sur leur structure, le nombre de noyaux aromatiques et les composants structuraux qui lient ces noyaux (**Clifford ,1999**).

En détails, l'aspect structural essentiel qui les définit est la présence d'au minimum un noyau phénolique à six carbones (**Figure4**), auquel est directement attaché au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou incorporé dans une autre fonction : Éther, ester ou hétéroside (**Druzynka et al.,2007**).



**Figure 4 :** Structure du noyau phénol (**Balasundram et al.,2006**).

On peut classer les polyphénols en deux grandes catégories : Les composés non flavonoïdes tels que : les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines, les coumarines et les tanins (**Benavente-Garcia et al.,1997**), ainsi que les flavonoïdes qui comprennent principalement : les flavones, la flavanone, le flavonol, l'isoflavonone, l'anthocyanine, la proanthocyanidine et le flavanol (**Rahman et al.,2006**). Le Tableau1 illustre les principales catégories de composés phénoliques, avec Ri symbolisant des radicaux alkyles.

**Tableau1 :** Principales classes des composés phénoliques (**Bossokpi,2002**).

Squelette Carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6 	Phénols simple	Catéchol	
C6-C3	Acides hydroxy cinnamique  Coumarines 	Acide caféïque, acide férulique  Scopolétine, esculétine	Pomme de terre Pomme  Citrus
C6-C3 	Acides hydroxy benzoïques	Acide gallique 	Ecorce de grenade

<b>C6-C2-C6</b>	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
	Flavonoïdes -Flavonols -Anthocyanes -Flavanols -Flavanones -isoflavonols	Rutine  Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs  Fleurs, Fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja
<b>(C6-C3)2</b> 	Lignanes	Pinorésinol	Pin
<b>(C6-C3)n</b> 	Lignines		Bois, noyau de fruits
<b>(C15)n</b>	Tanins	Tanins condensés  Tanins hydrolysables	Raisin rouge, Kaki

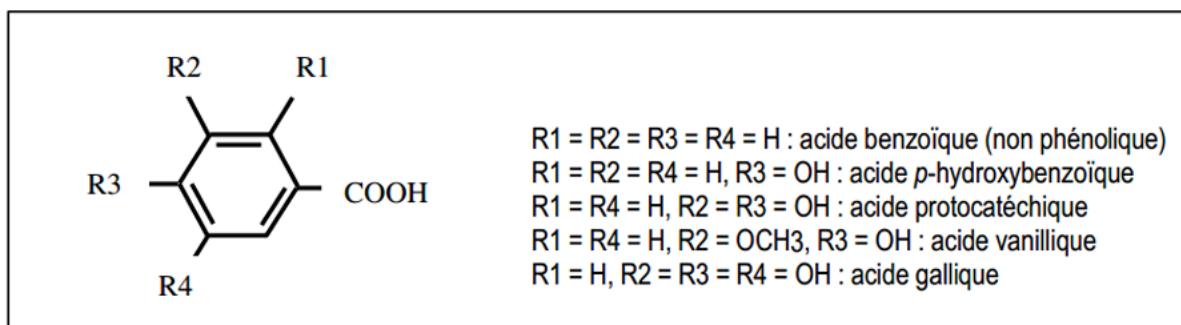
Dans les paragraphes qui suivent, nous détaillerons en profondeur certaines classes.

### **II-3-1-Les acides phénoliques :**

Il s'agit de composés organiques qui ont au moins une fonction carboxyle et un hydroxyle phénolique. Ces composés peuvent être divisés en deux types principaux : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (**Bruneton,2008**).

Les dérivés de l'acide benzoïque possèdent une structure chimique de type C6-C1. On les retrouve souvent sous forme d'esters ou de glucosides et ils peuvent aussi être intégrés dans des structures complexes comme c'est le cas pour certains tannins (**Macheix *et al.*,2006**)

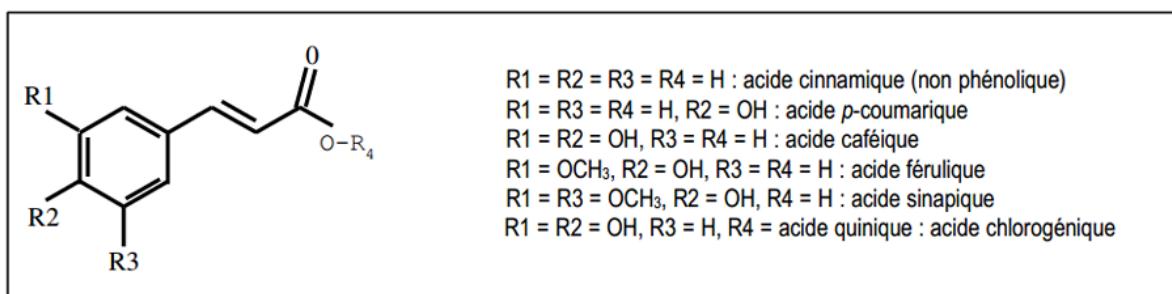
La figure ci-dessous illustre les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque les plus couramment rencontrés :



**Figure 5 :** Structure chimique des acides hydroxybenzoïques (**Bruneton,2008**).

Les acides hydroxycinnamiques, qui sont des dérivés de l'acide cinnamique, constituent une classe majeure dont la structure fondamentale (C6-C3) est issue de celle de l'acide cinnamique. Ces composés peuvent aussi être amidifiés ou fusionnés avec des sucres (O-acylglucosides, O-arylglucosides) ou des polyols comme l'acide quinique (**Bruneton,2008**).

La figure ci-après illustre les exemples les plus courants :



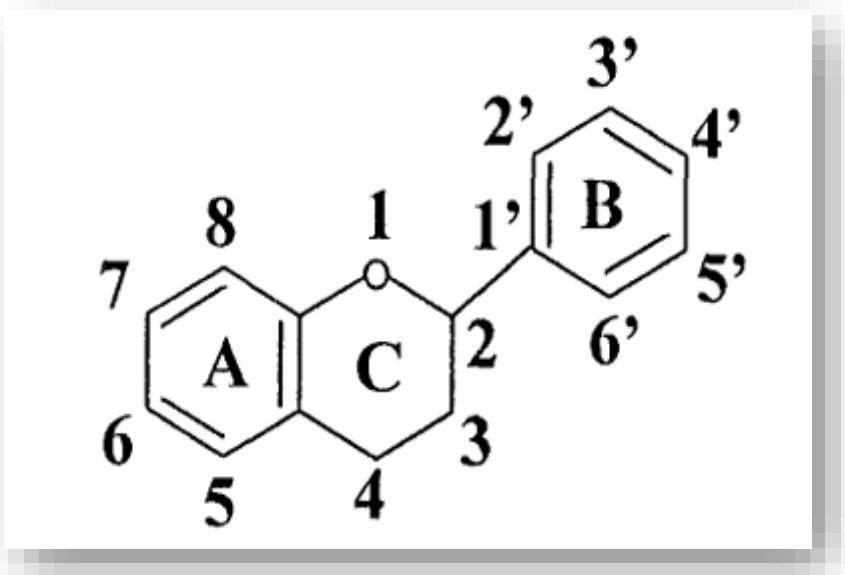
**Figure 6 :** Structure chimique des acides hydroxycinnamiques (**Bruneton,2008**).

Alors, les acides phénoliques se présentent généralement sous une forme liée, ce qui signifie qu'ils ne peuvent être libérés ou hydrolysés que par le biais d'une hydrolyse acide ou alcaline, ou par des enzymes (**Chandrasekara *et Shahidi,2010***).

### II.3.2.Les Flavonoïdes

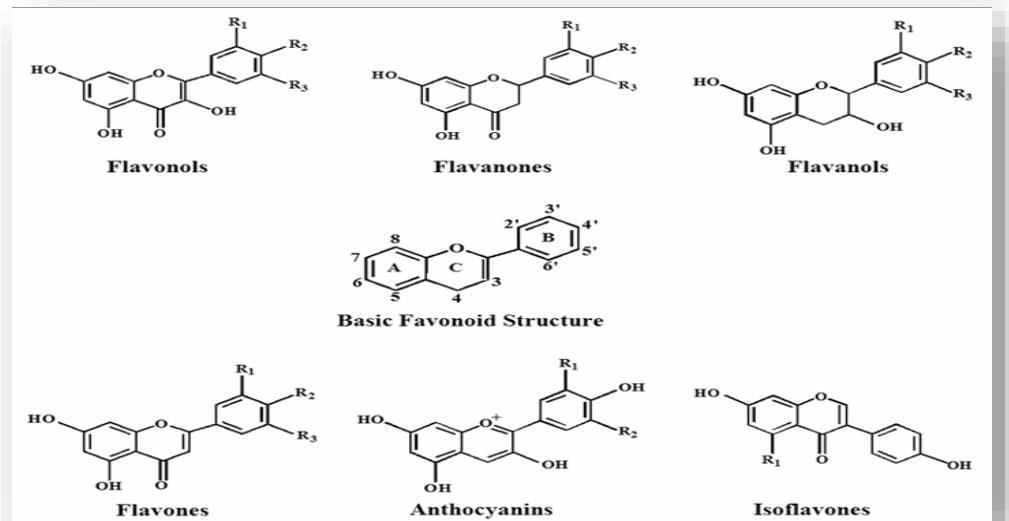
Les flavonoïdes constituent la plus grande part des composés polyphénoliques. Ils constituent un ensemble de plus de 6000 composés naturels présents quasiment partout chez les plantes, ils sont considérés d'être des pigments à l'origine de la couleur jaune (**BOUBEKRI,2014**).

Les flavonoïdes possèdent des structures formées de deux cycles aromatiques reliés par trois atomes de carbone au sein d'un hétérocycle contenant de l'oxygène formant une structure C6-C3-C6 (Figure 7) (**Tsao, 2010**).



**Figure 7 :** La structure générique des flavonoïdes (**Cook et Samman,1996**)

Selon le type d'hétérocycle impliqué, les flavonoïdes se répartissent en six sous-classes : les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavanols, les anthocyanes et les isoflavones. Les variations au sein de chaque catégorie résultent de la variation du nombre et d'arrangement des groupes hydroxyles, ainsi que leur degré d'alkylation et/ou glycosylation (**Pandey et Rizvi,2009**).

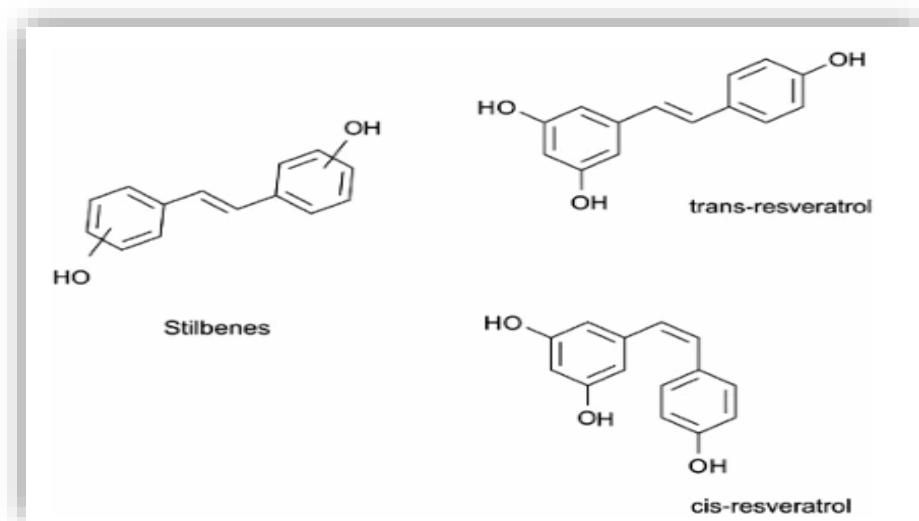


**Figure 8 :** Structures chimiques des sous-classes de flavonoïdes (**Pandey et Rizvi,2009**).

On trouve une large distribution de ces composés dans l'alimentation habituelle, y compris les fruits, les légumes et le thé (**Bruntano ,2009**).

### II.3.3. Les stilbènes

Les stilbènes ont un squelette carboné C6-C2-C6 (**Hano et Tungmunnithum,2020**), ce qui veut dire deux fractions phényles connectées par un pont méthylène comportant deux atomes de carbone. La consommation de stilbènes dans l'alimentation humaine est relativement basse. La majorité des stilbènes végétaux fonctionnent comme des phytoalexines antifongiques, des substances qui ne sont produites qu'en réponse à une infection ou à une blessure. Le resvératrol (3,4',5-tri hydroxystilbène), un polyphénol stilbène naturel largement étudié, se trouve principalement dans les raisins. Le vin rouge, issu du raisin, renferme également une proportion significative de resvératrol (**Pandey et Rizvi,2009**). Par ailleurs, on trouve les stilbènes à la fois sous des formes isomériques (configurations cis et trans), ainsi qu'en forme libre (mineure) et glycosylée (majeure) (**Singla et al.,2019**).



**Figure 9 :** La structure de base des stilbènes (1,2-diaryléthènes ; à gauche) et du cis- et trans-resvératrol (à droite) (**Singla et al.,2019**).

### II.3.4. Les lignanes :

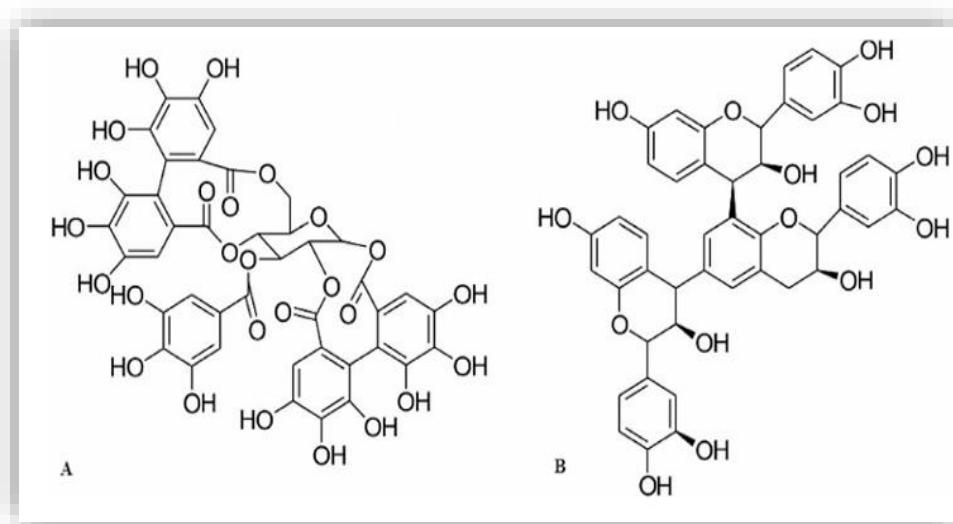
Les lignanes, qui constituent une autre catégorie de polyphénols, présentent une similitude structurelle avec les acides phénoliques (**Verma,2024**). L'expression lignane a été utilisée pour définir un ensemble de dimères de phényl-propanoïdes dans lesquels les unités phényl-propane sont fusionnées par le carbone central (C8) de chaque chaîne propyle (**Lamblin et al.,2008**).

De plus, huit sous-groupes de lignanes sont présents en fonction de leur structure carbonée, de leur modèle de cyclisation et de leur mode d'incorporation de l'oxygène dans la structure moléculaire. À ce jour, des recherches *in vivo* ont été menées sur l'effet anti-cancer des lignanes. Par ailleurs, les lignanes disposent des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-ménopausiques, antimicrobiennes et contribuant à la protection contre les problèmes cardiovasculaires, osseux et divers troubles psychologiques (**Bolat et al.,2024**).

### II.3.5.Les tanins :

On utilise généralement le terme tanin pour désigner un ensemble de biomolécules poly phénoliques de grande taille qui possèdent suffisamment d'hydroxyles et d'autres groupes appropriés, comme les carboxyles, pour créer des complexes stables avec diverses macromolécules. Ils sont fréquemment présents chez les gymnospermes et les angiospermes, et on les divise en tanins condensés et hydrolysables (**Kumar Das et al., 2020**).

Les tanins hydrolysables sont formés par des liaisons esters qui peuvent être hydrolysées entre les structures chimiques primaires, alors que dans le cas des tanins condensés, les monomères sont unis par des liaisons C-O ou C-C. Les tanins condensés sont les composés qui possèdent les principales bienfaits thérapeutiques associées aux tanins (**Bule et al., 2020**)



**Figure10 :** La structure des tanins hydrolysables(A) et condensés(B) (**Raja et al., 2014**).



## *Chapitre 2:*

# *Les plantes*

## I-Le clou de girofle « *Syzygium aromaticum* » :

### I-1-Définition :

Des siècles durant, des épices telles que le clou de girofle, l'origan, la menthe, le thym et la cannelle ont été employées comme agents de conservation alimentaire et en tant que plantes médicinales, principalement pour leurs capacités antioxydants et antimicrobiennes. À l'heure actuelle, plusieurs recherches valident les propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et anticancéreuses des plantes épicées.

Clou de girofle, en particulier, a suscité un intérêt particulier grâce à ses fortes vertus antioxydants et antimicrobiennes, qui le différencient des autres épices (**B Shan et al.,2005**).

*Syzygium aromaticum*, souvent désigné sous le nom de clou de girofle, est un arbre appartenant à la famille des Mirtaceae (**GP Kamatou et al.,2005**). C'est un arbre qui peut atteindre entre 1 et 12 mètres de hauteur, et exceptionnellement jusqu'à 20 mètres. On le retrouve principalement en Indonésie, où il pousse jusqu'à une altitude de 600 mètres. On le retrouve aussi dans tous les pays situés à l'équateur. Il nécessite une hauteur de levée allant de 1300 à 1800 m et un sol sans acidité. Il commence à générer des bourgeons de fleurs après 8 ou 9 ans de mise en terre. On peut récolter manuellement entre 3 et 5 kg de clous de girofle par arbre. On procède à sécher les bourgeons au soleil après la récolte, jusqu'à ce qu'ils prennent une couleur brune (**Y. Neves et al.,1948**)



**Figure 11 : Arbre d'un *Syzygium aromaticum*. (4)**



**Figure 12 :** Les bourgeons de fleurs du *Syzygium aromaticum*. (5)

Ces clous de girofle contiennent une forte concentration en minéraux, en fer, en calcium, en magnésium et en antioxydants, offrant ainsi de nombreux avantages pour la santé. Efficacement, elle contribue à combattre certaines infections, à réduire la douleur et favoriser une meilleure digestion.

Il peut être utilisé à l'état brut pour savourer les plats ou pour réaliser des tisanes, et également sous forme de poudre ou d'huile essentielle (Lee et al., 2009).



**Figure 13 :** Les clou de *Syzygium aromaticum* séchés. (6)

## I-2-Origine (Répartition géographique) :

L'Indonésie, l'Inde, la Malaisie, le Sri Lanka, Madagascar et la Tanzanie, notamment l'île de Zanzibar, sont les principaux pays producteurs de clous de girofle (GP Kamatou et al., 2005). Au Brésil, la culture du clou de girofle se fait principalement dans l'État de Bahia, au nord-est, notamment dans les zones de Valencia, Ituberá, Taperoá, Camamu et Nilo Peçanha. Ces régions couvrent environ 8 000 hectares et produisent près de 2 500 tonnes chaque année (RA Oliveira et al., 2007).



Figure 14 : Carte géographique des principaux producteurs de *Syzygium aromaticum* du monde. (7)

## I-3-Composition chimique :

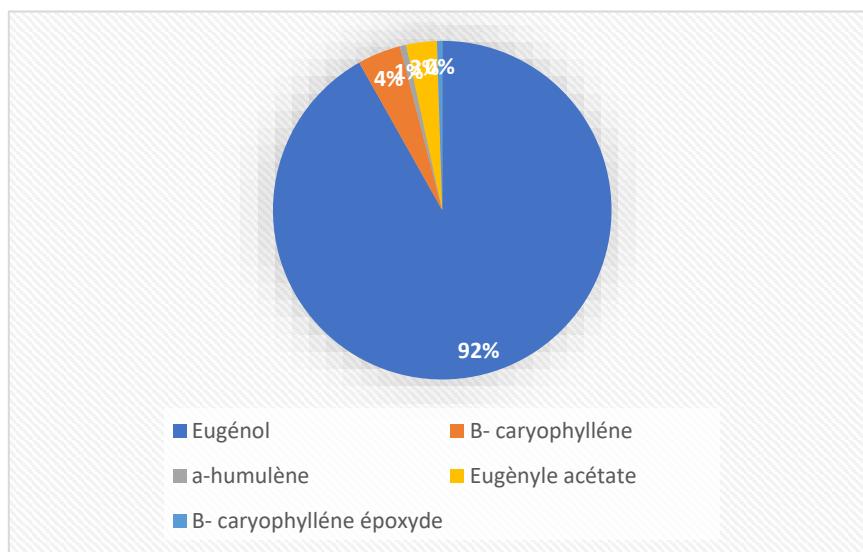


Figure 15 : Les principaux composants chimiques du *Syzygium aromaticum* (Bao, L. M. et al., 2012).

L'eugénol (1) est l'élément majoritairement à l'origine de la senteur du clou de girofle, représentant 92 % de l'huile essentielle de girofle (Bao, L. M. et al., 2012).

Parmi les composants fréquemment présents dans l'huile essentielle, on trouve l'acétate d'eugényle (2), le  $\beta$ -caryophyllène (3), le salicylate de méthyle (4), le pinène (5), la vanilline (6) et l' $\alpha$ humulène (7) (Kamatou, G. P. et al.,2012).

Le *Syzygium aromaticum* constitue l'une des principales sources végétales de composés phénoliques, à identifier :

- Les flavonoïdes,
- Les acides hydroxybenzoïques,
- Les acides hydroxycinnamique
- Hydroxyphénol propénés
- Les terpénoïdes (Kuete, V. ,2017).

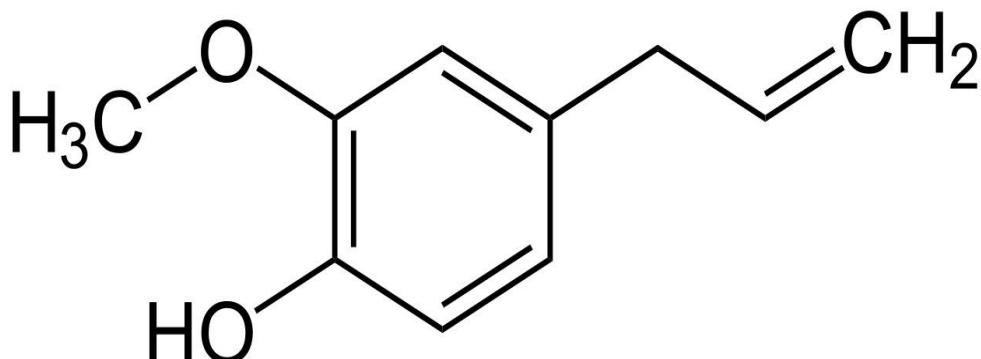


Figure 16 : Structure principale de l'eugénol. (8)

#### I-4-Position systématique du *Syzygium aromaticum* :

Tableau 2 : position systématique de *Syzygium aromaticum* (Georgetti S.R.,et al).

Classification scientifique	
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (=Phanérogames)
Sous-embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliophytina</i> (=angiospermes)
Ordre	<i>Myrales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygium. Aromaticum.</i>

### **I-5-Les utilisations :**

Les clous de girofle ont été employés pour soigner les douleurs dentaires, buccales, de la gorge, l'inflammation de la muqueuse buccale et la halitose. Il est aussi utilisé à l'extérieur pour traiter le rhumatisme, les myalgies (douleurs musculaires), l'utilisation de l'anesthésie locale dans le traitement des plaies liées à la sciatique.

Les clous de girofle, administrés par voie orale, sont employés dans le soin des problèmes digestifs tels que les ballonnements épigastriques, la lenteur de la digestion, les éructations et les flatulences (**Ghedira et al., 2010**).

Il possède également deux effets spécifiques significatifs :

### **I-6-Effet anti oxydant**

Les composés phénoliques du *Syzygium aromaticum* possèdent des propriétés antioxydantes grâce à leur aptitude à capturer les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, un processus qui est radicalaire. Ils entraînent l'oxydation des lipides et d'autres molécules en fournissant rapidement un atome d'hydrogène aux radicaux libres. L'antioxydant libère de manière formelle un radical d'hydrogène, qui pourra être suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, résultant en un radical (**Portes, 2008**).

### **I-7-Effet immunomodulateur**

Le clou de girofle exerce des effets immunomodulateurs en inhibant l'action du LPS. Un mécanisme d'action possible implique probablement la suppression de la voie du facteur nucléaire κB par l'eugénol, car il s'agit du principal composé présent dans l'extrait de clou de girofle ; et aussi provoque l'amélioration des mécanismes de réponse immunitaire à médiation humorale et cellulaire (**Bachiega et al., 2012 ; Carrasco et al., 2009**).

## **II-Le romarin « Rosmarinus officinalis »:**

### **II-1-Définition :**

Le romarin ou *Rosmarinus officinalis* est un arbuste à feuilles persistantes qui peut monter jusqu'à 1,8 m de hauteur, en position verticale ou étalée. Les feuilles, dépourvues de pétiole, présentent une taille variable sur une même branche ; elles sont fortement courbées et effilées, ayant une forme linéaire ou en forme de lance. La face supérieure est de couleur verte tandis que la face inférieure présente une teinte blanchâtre, due à l'abondance de poils : des trichomes glandulaires (capités et peltés) ainsi que des trichomes non glandulaires (**González-Minero et al.,2020**). En plus de ses feuilles persistantes, odorantes en forme d'aiguilles, ses fleurs peuvent être blanches, roses, violettes ou bleues. Sa floraison pouvant aller aussi tard que début décembre, dès la mi-février spécifiquement dans la zone méditerranéenne (**Kompelly et al.,2019**).



**Photo 1 :** La plante de *Rosmarinus officinalis*.

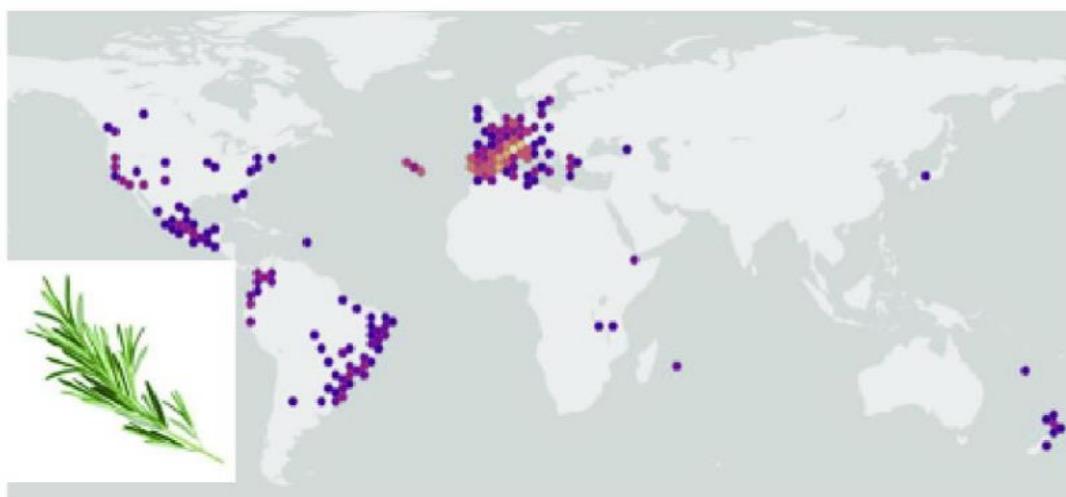
Le terme *Rosmarinus officinalis*, connu sous le nom de romarin, est issu des mots latins *ros* (rosée) et *marinus* (mer), signifiant « rosée de la mer ». En effet, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer (**Marion, 2015**).



**Figure 17 :** les fleurs, les feuilles et l'huile de romarin (**Meziane et al.,2025**).

### **II-3-Répartition géographique**

Il est cultivé depuis l'époque antique, on le trouve dans divers pays (Fig.20) d'Europe principalement l'Espagne à des fins commerciales. Certaines régions d'Asie, des États-Unis, du Mexique et de l'Afrique du Sud (**González-Minero et al.,2020**).



**Figure 18 :** Répartition géographique de *Rosmarinus officinalis* selon GBIF (the Global Biodiversity Information Facility) (**González-Minero et al.,2020**).

Le romarin sauvage se développe aussi dans le bassin méditerranéen comme le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, la France, l'Espagne déjà mentionnée, le Portugal, la Grèce, la Turquie et l'Italie (**Borges et al., 2019**).

Il est fréquemment planté dans les jardins, il a besoin de beaucoup de lumière et de chaleur, et il supporte bien la sécheresse. Généralement il pousse dans les zones arides, garrigues et sur les terrains rocheux de la région méditerranéenne, et même légèrement au sud jusqu'aux limites sahariennes (**Boullard, 2001**). Dans son habitat naturel, on le trouve sur des sols calcaires (**Escuder, 2007**).

### **II-3-Classification :**

Le romarin est un membre de la famille des Lamiacées, l'une des plus vastes et prestigieuses familles de plantes à fleurs, qui regroupe environ 236 genres et entre 6900 et 7200 espèces à travers le monde. Initialement, le nom de famille était *Labiatae*, en raison du fait que les fleurs présentent généralement des pétales fusionnés en lèvres supérieure et inférieure. Cependant, la majorité des botanistes préfèrent désormais utiliser le terme *Lamiaceae*. La famille des Lamiacées est réputée pour ses huiles essentielles biologiquement actives, fréquemment présentes chez plusieurs de ses membres. On y trouve aussi bien des herbes décoratives que culinaires, comme le basilic, la lavande, la menthe, le romarin, la sauge et le thym (**Andrade et al., 2018**).

**Tableau 3 : La classification scientifique de *Rosmarinus officinalis* L (Andrade et al., 2018).**

Classification scientifique	
<i>Règne</i>	<i>Plantae</i>
<i>Sous-règne</i>	<i>Tracheobionta</i>
<i>Super division</i>	<i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	<i>Magnoliophyta</i>
<i>Classe</i>	<i>Magnoliopsida</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Asteridae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Lamiale</i>
<i>Famille</i>	<i>Lamiaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Rosmarinus L.</i>
<i>Espèce</i>	<i>Officinalis</i>
<i>Nomenclature binomiale</i>	<i>Rosmarinus officinalis L</i>

### **II-4-Les composants phytochimiques**

*Rosmarinus officinalis L* (romarin) renferme une diversité de composés actifs, parmi lesquels on trouve des flavonoïdes, des tanins, des diterpènes tricycliques, des triterpènes, ainsi que divers acides phénoliques tels que l'acide rosmarinique (**Debuigne et Couplan, 2009**). Elle contient également de la résine (**Beloued, 1998**), de l'acide caféïque, de l'acide ursolique, de l'acide bétulinique, de l'acide carnosique et du carnosol (**Samuelsson et al., 2001 ; Ulbricht et al., 2010 ; Begum et al., 2013**).

Par ailleurs, cette plante aromatique renferme entre 1 et 2 % d'huile essentielle, dont la composition est dominée par plusieurs constituants majeurs : l' $\alpha$ -pinène (7 à 80 %), la verbénone (1 à 37 %), le camphre (1 à 38 %), l'eucalyptol (1 à 35 %), le bornéol (4 à 19 %), l'acétate de bornyle (jusqu'à 10 %) et le camphène (**Bellakhdar, 1997**).



**Figure19 :** Structure chimique de trois composés majeurs présents chez *R. officinalis*

(A) Acide carnosique (B) Carnosol (C) Acide rosmarinique (**Andrade et al.2018**).

### II-5-l'activité antioxydante du romarin:

Les diterpènes phénoliques tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique ont été identifiés comme les antioxydants les plus puissants dans l'huile essentielle de romarin en augmentant la défense du corps contre les espèces réactives nocives et les dommages oxydatifs. (**Hamidpour et al.,2017**).

Cette plante exerce son action antioxydante par divers mécanismes métaboliques. Par exemple, l'huile essentielle ainsi que l'extrait de romarin ont prouvé leur aptitude à éliminer et à prévenir les radicaux libres (**Žegura et al.,2011 ; Abdel-Wahhab et al.,2011**). Le romarin a aussi la capacité de prévenir la peroxydation lipidique, un processus délétère provoqué par le stress oxydatif (**Al Sereitia et al.,1999 ; Bulbul et al.,2012**). Au-delà de diminuer le nombre d'espèces réactives dans l'organisme, on a observé que le romarin stimule l'activité des enzymes antioxydantes (**Afonso et al.,2013**).

### II-6-L'effet immunomodulateur du romarin:

L'extrait de romarin présente plusieurs propriétés immunomodulatrices. Il favorise la production des anticorps IgM et IgG et renforce les réponses secondaires de l'immunité en stimulant la différenciation des cellules B-mémoire en plasmocytes producteurs d'anticorps (**Alsheyab et al., 2011**). Il induit également une prolifération accrue des macrophages péritonéaux (**Mansour et al., 2011**), et améliore leurs fonctions, telles que la chimiotaxie, la phagocytose et l'activité microbicide, aussi en activant les cellules natural killer et en augmentant la prolifération des lymphocytes (**Collett et al., 2004, Kunnumakkara et al., 2007**). De plus, l'extrait de romarin stimule la libération de cytokines pro-inflammatoires et régulatrices telles que le TNF- $\alpha$ , l'interleukine-2 (IL-2), l'IL-1 $\beta$  et l'IL-8, contribuant ainsi au renforcement global de la réponse immunitaire (**Kim et al., 2003 ; Camacho-Barquero et al.,2007 ; Nonn et al., 2007 ; Shakibaei et al., 2007**).

### II-7-Utilisations:

Le romarin est maintenant cultivé dans le monde entier en raison de ses utilisations bénéfiques comme suit :

- Agent aromatisant, Il est couramment utilisé comme épice dans la région méditerranéenne et en Grande-Bretagne pour donner de la saveur aux viandes, poissons et légumes. On produit un miel spécifiquement à partir du nectar des fleurs de romarin.

On appelle ce miel fortement aromatique, le miel de romarin. Son goût aromatique permet de remplacer la vanille pour améliorer les gâteaux (**Kahkahi et al.,2025**).

- Conservateur alimentaire naturel efficace grâce à les composés phénoliques tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique qui sont à l'origine de l'importante activité antioxydante de l'extrait et de l'huile essentielle de romarin. Au-delà de son activité antibactérienne et antifongique intense qui positionne la plante comme un inhibiteur très performant des agents pathogènes alimentaires (**Hamidpour et al.,2017**).
- Dans les cosmétiques et les produits de beauté, on utilise des dérivés du romarin pour produire des huiles essentielles destinées aux massages et à l'aromathérapie, de l'alcool de romarin, divers gels, shampoings, savons, eau de romarin, lait nettoyant, déodorants, crèmes anti-rides, laits après-rasage, crèmes hydratantes pour le visage et contour des yeux...(**González-Minero et al.,2020**). De plus, il accélère la croissance des cheveux, son huile essentielle entre dans la fabrication de nombreux parfums (**Kahkahi et al.,2025**).
- L'huile de romarin ou la plante en général favorise la circulation du sang, renforce le système nerveux, la peau, le foie ainsi que la vésicule biliaire. Elle possède des caractéristiques rafraîchissantes, antiseptiques, antibactériennes, diurétiques, purificatrices et antifongiques, tout en agissant comme un antidépresseur performant. Elle atténue les spasmes, diminue les gaz, équilibre la digestion et combat les rhumes et les douleurs. Elle offre une détente pour l'esprit fatigué et favorise la clarté mentale sur le plan émotionnel. Dans la médecine traditionnelle et moderne, elle est utilisée pour soigner une gamme de maladies telles que les coliques néphrétiques, les douleurs rhumatismales, l'épilepsie, les problèmes respiratoires, le diabète et la dysménorrhée. On l'a également utilisé à des fins antalgiques pour soulager les douleurs abdominales, les maux d'estomac et les maux de gorge en plus des douleurs musculaires et articulaires. De plus, la plante est connue pour être utilisée comme insecticide et herbicide (**Mostefai et al.,2015 ; Kahkahi et al.,2025 ; Andrade et al.,2018**).



# *Etude expérimentale*



# *Chapitre 1:*

## *Matériels et*

## *méthodes*

## I-Matériels :

### I -1-Le matériel végétal

Notre étude est réalisée à partir de deux types de plantes :

- Les feuilles de *Rosmarinus officinalis* : elles ont été récoltées le mois de février 2025 à la commune d'Oued Athmania wilaya de Mila.



(a)



(b)

**Figure 20 : a.** Photo original de la plante *Rosmarinus officinalis*

**b.** La localisation géographique du lieu de récolte

- Les bourgeons de *Syzygium aromaticum* :



**Photo2 :** Des bourgeons floraux de *Syzygium aromaticum*.

**I-2-Le matériel animal:**

Dans le but de l'évaluation de l'activité immunomodulatrice de nos extraits, nous avons utilisé un groupe de 25 souris femelles de la race Albinos, avec un poids moyen d'environ 20g issues de l'animalerie de Chaabat Ersas de l'université des frères Mentouri à Constantine.



**Photo 3:** Souris de la race Albinos.

**II-Méthodes :****II-1-Séchage, broyage et conservation du matériel végétal.**

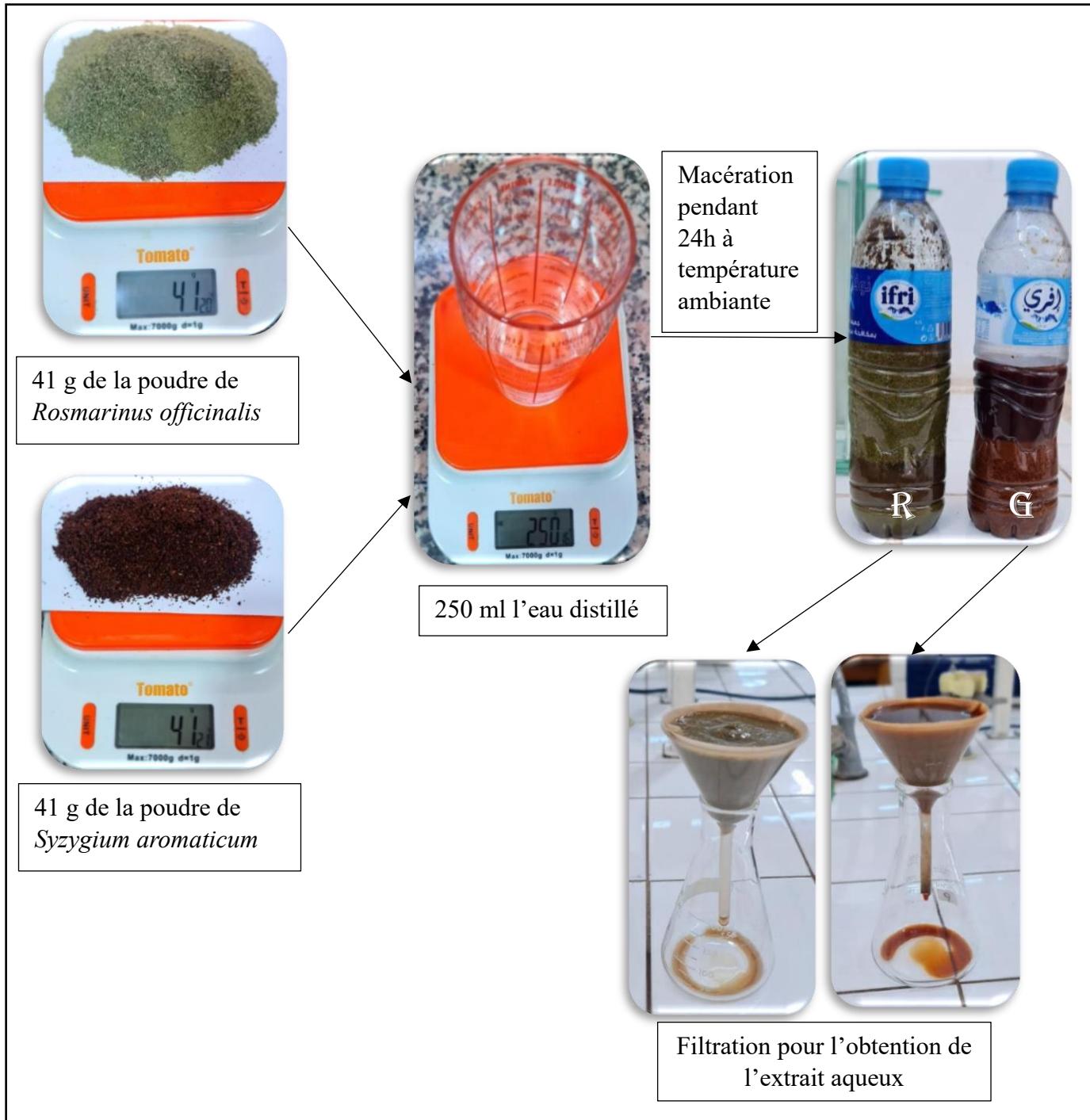
Les feuilles de romarin (*Rosmarinus officinalis*) ont été lavées puis séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité. Après le séchage, le romarin (*Rosmarinus officinalis*) et les clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) ont été broyées par un moulin à café pour obtenir une poudre fine conservée dans des boîtes en verre à température ambiante jusqu'à l'utilisation.



**Figure21 :** Séchage et broyage des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*.

## II-2-Préparation de l'extrait aqueux

Selon la méthode de Bougandoura et Bendimerad (2013) modifiée, une quantité de 41g de la poudre de chaque plante (*Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*) a été macérée dans 250 ml de l'eau distillé pendant 24h à température ambiante, l'ensemble a été filtré par le papier filtre jusqu'à l'obtention d'un extrait aqueux homogène.



**Figure22 :** Préparation de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*.

**II-3-Evaporation et lyophilisation de l'extrait aqueux**➤ **L'évaporation :**

L'évaporateur rotatif est un appareil utilisé pour évaporer rapidement des solvants, dans le but de concentrer partiellement ou totalement une solution ou une suspension.

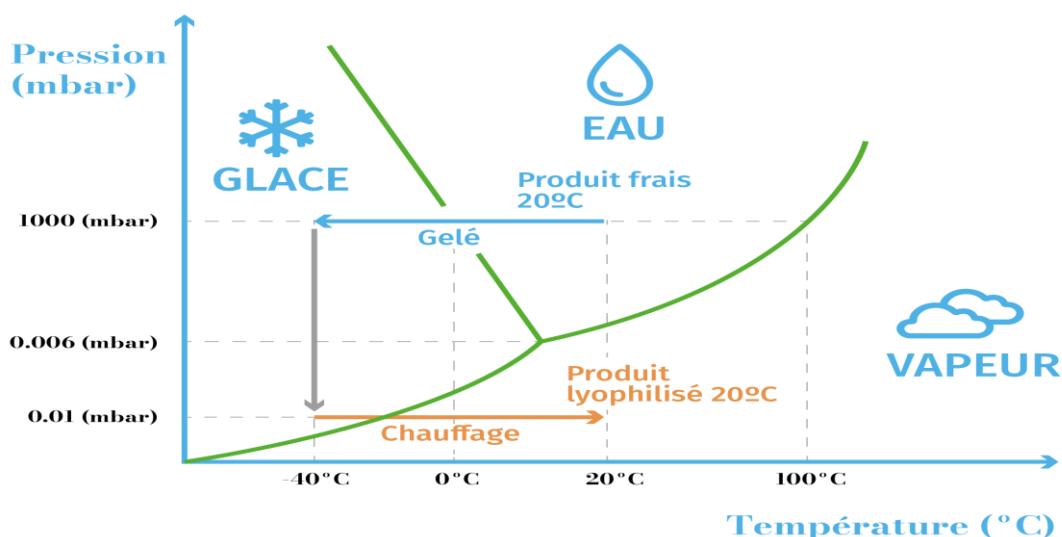
Dans notre recherche, nous avons examiné les deux extraits (l'extrait de clou de girofle et l'extrait de romarin) afin d'éliminer la majorité de l'eau, ne conservant qu'une petite quantité. Dans notre cas lors de l'utilisation du rotavapor (l'évaporateur rotatif), la température ne doit pas dépasser 55°C (il faut éviter de la porter à 66°C à cause de risque de dénaturation des molécules). Puis, on les place dans des boîtes de pétrie avant de les mettre au congélateur à une température variant entre -20 °C et -25 °C en vue de leur préparation pour la seconde phase, qu'est appelée \*Lyophilisation\*.



**Photo 4 :** Évaporateur rotatif (Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques ALI MENDJLI).

## ➤ La Lyophilisation :

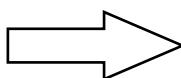
La lyophilisation est un mécanisme de déshydratation douce qui vise à transformer l'eau contenue dans un produit en vapeur tout en préservant les liaisons moléculaires. Ce procédé laisse le produit déshydraté et stable à température ambiante, connu sous le nom de lyophilisat. Grâce à cette technique, la forme, la texture, la saveur et les nutriments sont conservés, offrant ainsi un produit de grande qualité et d'une longue durée de conservation.



**Figure 23 :** Courbe représentatrice des différentes étapes de la lyophilisation.



**Photo 5 :** Le Lyophilisateur  
(Centre de Recherche en Sciences  
Pharmaceutiques ALI MENDJLI).



**Photo 6 :** L'extrait des plantes dans des  
boites de pétrie après lalyophilisation.

**II-4-Analyse quantitative de l'extrait AQ des deux plantes Rosmarinus officinalis et Syzygium aromaticum:****II-4-1-Dosage des polyphénols totaux**

➤**Principe :**

Le réactif de Folin-Ciocalteu se compose d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_12O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_12O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des phénols, il effectue une réduction se traduisant par un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Boizot et Charpentier, 2006**).

➤**Dosage :** (Annexe8)

Selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Wong et al., 2006**) :

**II-4-2-Dosage des flavonoïdes**

➤**Principe :**

Les flavonoïdes contiennent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5, susceptible de former un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium lorsqu'associé au groupement CO. Ils créent des complexes de coloration jaunâtre en chélatant les métaux (fer et aluminium). Cela signifie que le métal (Aluminium) perd deux électrons pour se lier à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique, jouant ainsi le rôle de donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon et al., 1972**).

➤**Dosage :** (Annexe10)

Selon La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al, 1996**) :

**II-4-3-Dosage des tanins condensés**

➤**Principe :**

Ce test repose sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline dans un milieu acide (**Swain et Hillis., 1959**). Cela favorise la liaison du groupement aldéhyde de la vanilline au carbone 6 du cycle A de la catéchine, créant un complexe chromophore rouge qui présente une absorption à 500nm (**Schofield et al., 2001**).

➤**Dosage :** (Annexe 12)

Selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978), modifiée par Heimler et al (2006) :

**II-5-Les tests de l'activité antioxydante :****II-5-1-Test du pouvoir anti oxydant par Réduction du Fer (FRAP : ferric reducing antioxidant power)**

➤Principe :

L'évaluation repose sur la réduction du (Fe+3) présent dans le complexe de ferrocyanure de potassium en (Fe+2), une réaction qui se révèle par La transformation de la couleur jaune du fer ferrique (Fe+3) en bleu-vert du fer ferreux (Fe+2), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm, un accroissement de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur des extraits examinés (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

➤Dosage :(Annexe 14)

Le protocole expérimental utilisé est celui de Yildirim *et al.*, 2001 :

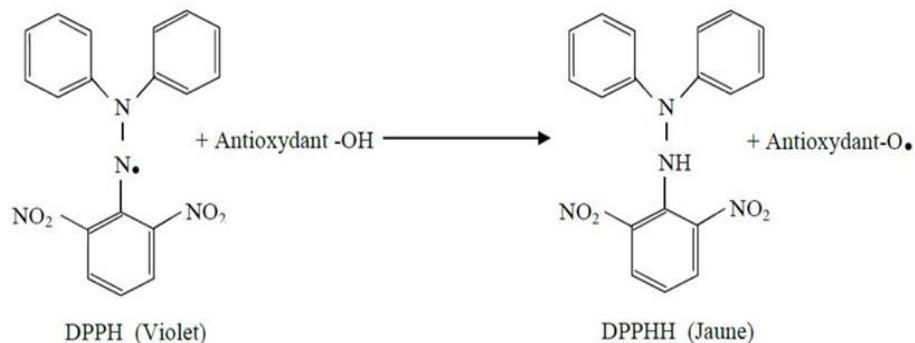
### **II-5-2-Test du pouvoir anti oxydant par la capacité de piégeage du radical libre DPPH**

➤Principe :

L'analyse de l'activité antioxydante recourt généralement à la méthode DPPH (diphenylpicrylhydrazyl). Effectivement, le DPPH se distingue par sa capacité à générer des radicaux libres stables.

Cette stabilité résulte de la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH<sup>•</sup> entraîne une coloration violet sombre dans la solution. L'agent antioxydant provoque une décoloration de la solution en réduisant les radicaux DPPH<sup>•</sup> (**Molyneux, 2004**).

La dégradation de couleur peut être surveillée par spectrophotométrie à 517nm, ce qui permet de déterminer le potentiel antioxydant d'une substance ou d'un extrait végétal (**Popovici et al., 2010 ; Molyneux, 2004**).



**Figure24:** Equation du radical DPPH transformé en DPPH (**Talbi et al., 2015**).

➤Dosage : (Annexe15)

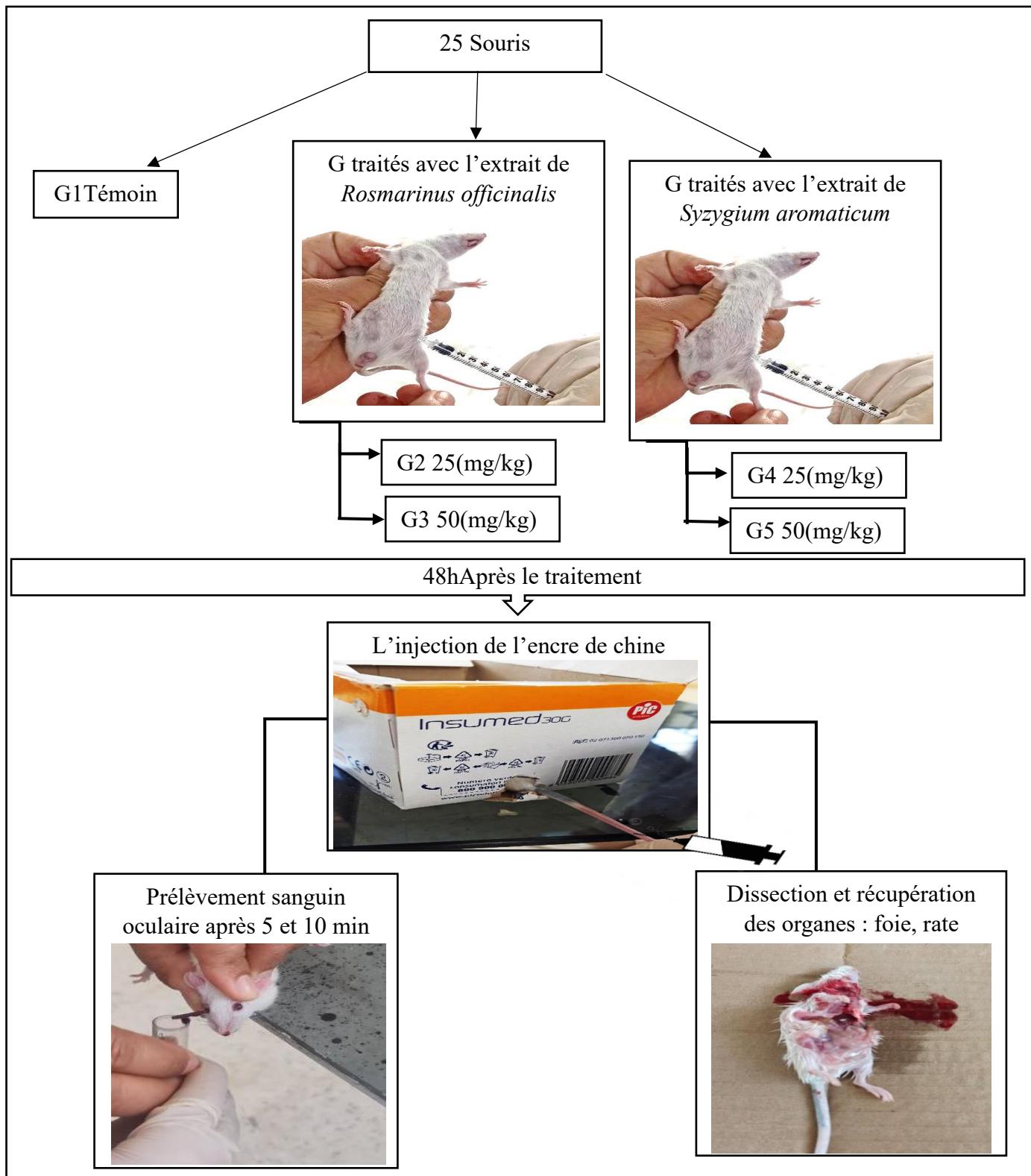
Dans notre étude, ce test a été évalué suivant le protocole appliqué en 2007 par Kuramasamy et ses collaborateurs.

**II-6-Evaluation de l'effet immunomodulateur****II-6-1-L'élevage des souris**

Les souris Albinos de notre expérimentation ont été élevées dans des conditions hygiéniques dans des cages en plastique bien nettoyée avec une litière de copeaux de bois changée tout au long de l'expérience, elles avaient un accès libre à l'eau avec une nourriture sous formes de croquettes. La période d'adaptation était environ 10 jours avant la pratique.



**Photo 7 :** Les souris de notre expérimentation.

**II-6-2-le protocole expérimental :**

**Figure25 :** Plan expérimental suivi pour l'évaluation de l'effet immunomodulateur de l'extrait des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*.

### **II-6-3-Mesure de l'activité phagocytaire**

L'activité phagocytaire a été exprimée par l'index phagocytaire K, lequel mesure l'ensemble de la fonction réticulo-endothéliale au contact du sang, et par l'index phagocytaire  $\alpha$  corrigé qui exprime cette activité par unité de poids des organes actifs : foie et rate. Le taux de clairance est exprimé en demi-vie du carbone dans le sang ( $t_{1/2}$ , min). Les activités sont calculées d'après les formules de (**Satnam et al., 2012; Biozzi et al., 1953**). Selon les équations suivantes :

$$K = \frac{\ln DO_1 - \ln DO_2}{(t_2 - t_1)}$$

$$t_{1/2} = \frac{0,963}{k}$$

$$\alpha = \frac{\sqrt[3]{k} \times \text{poids de souris}}{\text{poids du foie} + \text{poids de rate}}$$

Où DO1 et DO2 sont les densités optiques mesurées après 5 et 10min respectivement

### **II-6-4-L'analyse statistique**

Les résultats de l'activité phagocytaire et le taux de clairance de carbone sont présentés sous forme de moyennes et écart-types.



## *Chapitre 2: résultats et discussion*

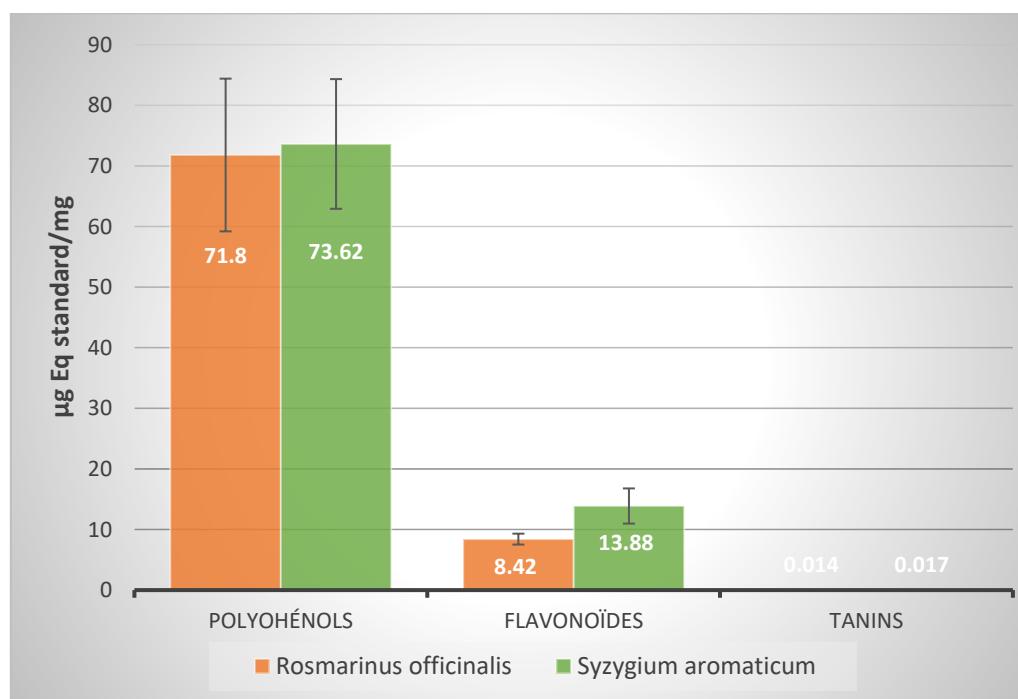
## I-Résultats

### I-1-Les tests biologiques réalisés in vitro :

#### I-1-1-Analyse quantitative de l'extrait aqueux des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*.

Les résultats obtenus à partir des équations de régression linéaire spécifiques à chaque courbe d'étalonnage (acide gallique :  $y=0,009x$ , quercétine :  $y=0,0661x+0,0112$ , catéchine :  $y=3,1847x-0,0344$ ) ont été exprimés sous forme de « moyenne de 3 mesures  $\pm$  SD », puis représentés graphiquement à l'aide d'un histogramme (**Figure26**) afin de faciliter leur interprétation.

Les résultats mentionnés (**Figure26**), indiquent que les deux plantes contiennent les teneurs les plus hautes en polyphénols totaux et en flavonoïdes, tout en présentant des niveaux faibles de tanins. En comparant les deux extraits aqueux, on observe que *Syzygium aromaticum* présente une richesse en polyphénols totaux ( $73.62 \pm 10.7$ ) légèrement supérieure à celle de *Rosmarinus officinalis* ( $71.8 \pm 12.6$ ). En ce qui concerne les flavonoïdes, *Syzygium aromaticum* se distingue nettement avec une teneur ( $13.88 \pm 2.9$ ) presque le double de celle trouvée dans *Rosmarinus officinalis* ( $8.42 \pm 0.9$ ). Pour les tanins, les deux plantes contiennent des quantités très faible toute fois *Syzygium aromaticum* possède une teneur en tanins ( $0.017 \pm 0.001$ ) légèrement plus que *Rosmarinus officinalis* ( $0.014 \pm 0.001$ ). Il est totalement clair que la plante de *Syzygium aromaticum* possède une richesse remarquable en composés bioactifs, évaluées dans notre étude, surpassant largement celle de *Rosmarinus officinalis*.



**Figure 26 :** Teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins ( $\mu\text{g Eq standard/ mg}$ ) de l'extrait aqueux des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*.

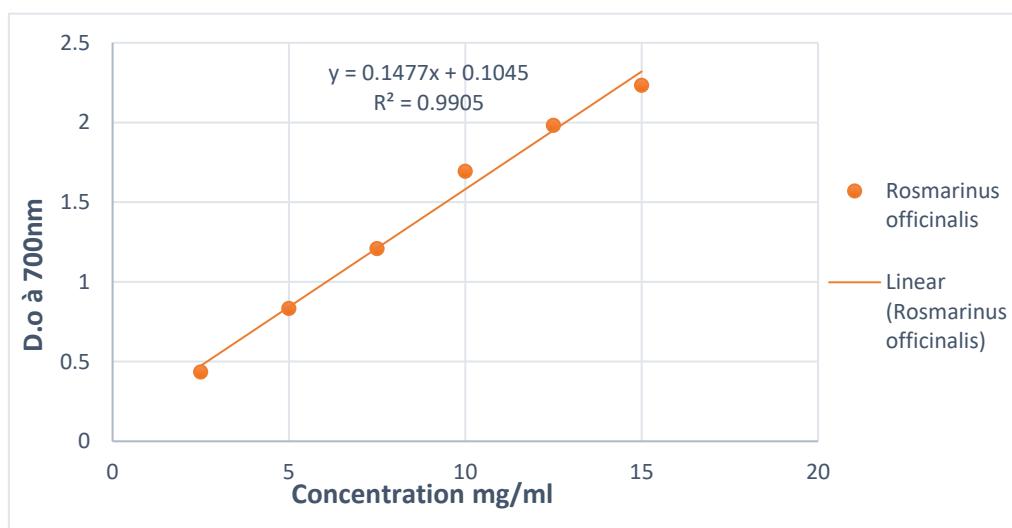
### **I-1-2-Evaluation du potentiel antioxydant**

#### **I-1-2-1-Test du pouvoir réducteur FRAP**

Le potentiel réducteur de l'extrait est déterminé par la méthode colorimétrique qui est basée sur la réduction d'un complexe ferrique Fe<sup>3+</sup> à la forme ferreuse (Fe<sup>2+</sup>), l'évaluation de Fe<sup>2+</sup> se fait en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue dans le milieu réactionnel à 700nm. Nos résultats (**Figure 27, 28**) montrent que les extraits aqueux des deux plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* utilisés dans notre étude représentent une augmentation de l'absorbance proportionnelle avec les concentrations utilisées, ce qui signifie une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Donc, les deux plantes possèdent un potentiel antioxydant intéressant. Les valeurs de CE50 (concentration efficace à 50 %) ont été déterminées à partir des équations des droites de régression obtenues pour chaque extrait :

*Rosmarinus officinalis* : CE50 = 2,67 mg/ml      *Syzygium aromaticum* : CE50 = 2,48 mg/ml

Les résultats indiquent que l'extrait aqueux de *Syzygium aromaticum* présente la plus faible valeur de CE50 suivi de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis*. Ces données montrent clairement que l'extrait aqueux de *Syzygium aromaticum* possède le pouvoir réducteur le plus élevé parmi les extraits testés.



**Figure 27 :** réduction du fer de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis*.

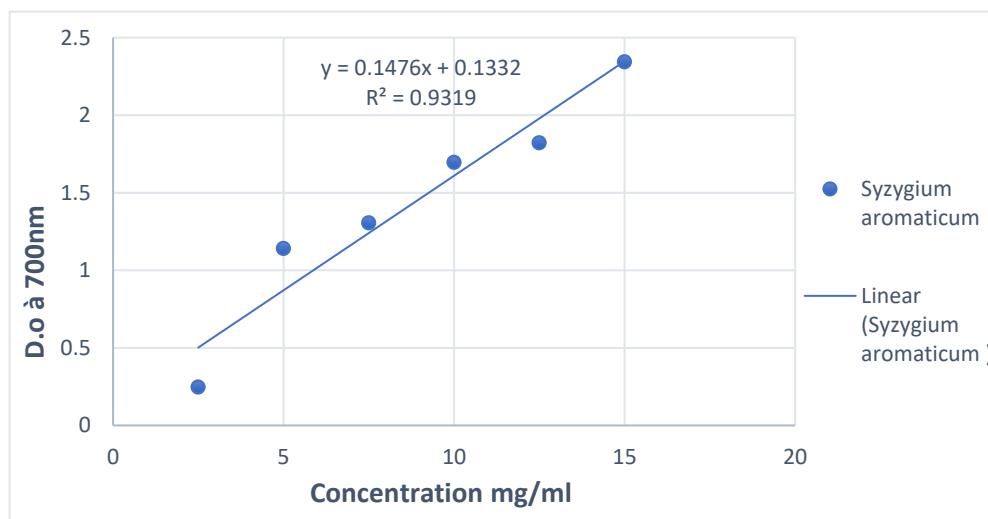


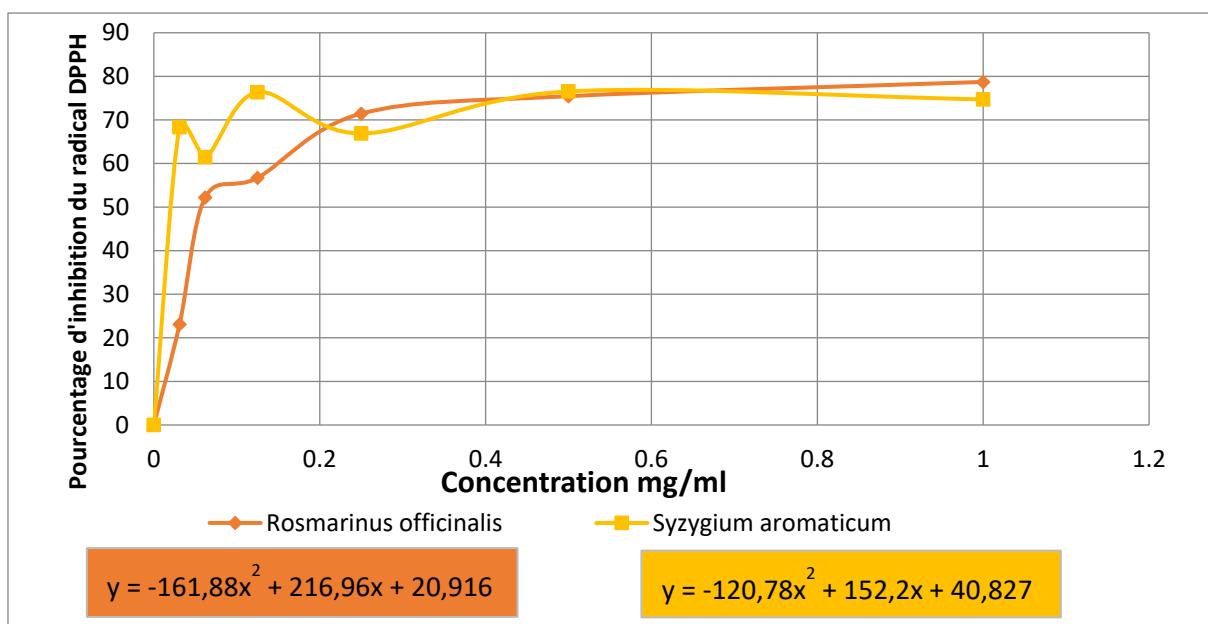
Figure 28 : réduction du fer de l'extrait aqueux de *Syzygium aromaticum*.

### I-1-2-2-Test de l'activité scavenger du radical DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits végétaux est souvent réalisée par la technique de capture du radical libre DPPH. Cette méthode permet une évaluation facilitée de l'effet antioxydant en observant la diminution, de l'absorption du DPPH à 517 nm. Les courbes ci-dessous représentent la variation du pourcentage du pouvoir inhibiteur en fonction de la concentration de chaque extrait aqueux des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*. D'après les résultats représentés dans la (figure29), il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration pour les différents extraits de notre étude. Les valeurs de IC50 (concentration d'inhibition à 50 %) ont été déterminées à partir des équations des droites de régression obtenues pour chaque extrait :

*Rosmarinus officinalis*: IC50 = 0,151 mg/ml      *Syzygium aromaticum*: IC50 = 0,0635 mg/ml

La courbe d'inhibition du radical DPPH montre que *Syzygium aromaticum* atteint rapidement un pourcentage d'inhibition supérieur à 70 % à faible concentration (0,125mg/ml), traduisant une forte capacité de neutralisation des radicaux libres. À l'inverse, *Rosmarinus officinalis* montre une inhibition plus modérée sur toute la gamme de concentrations testées. Ainsi, plus la valeur de IC50 est basse, plus la substance est efficace pour inhiber 50 % des radicaux libres à une concentration moindre donc la valeur IC50 calculée pour les deux extraits indique que *Syzygium aromaticum* possède une activité antioxydante plus élevée que *Rosmarinus officinalis*, comme en témoigne sa valeur de IC50 qu'est la plus faible.

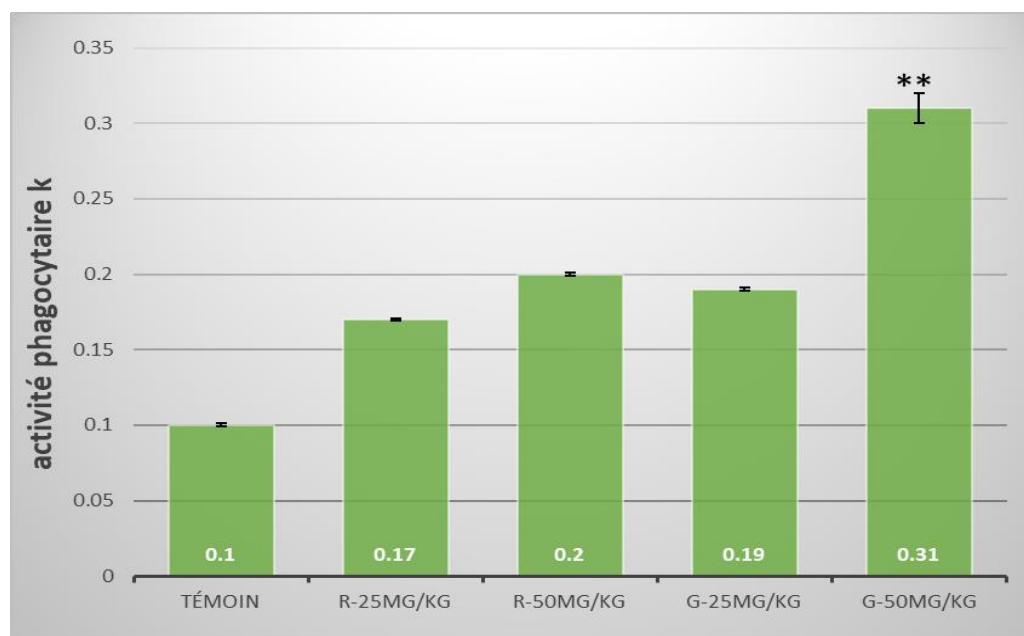


**Figure 29:** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH des extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*.

### I-2-Les tests biologiques réalisés in vivo :

#### I-2-1-L'effet d'extrait du *Syzygium Aromaticum* et *Rosmarinus officinalis* sur l'activité phagocytaire :

Pour mieux comprendre l'effet de l'extrait du *Syzygium Aromaticum* et *Rosmarinus officinalis* dans le mécanisme de défense immunitaire en l'effectue le test de l'activité phagocytaire.



**Figure 30 :** L'effet des extraits de *Syzygium Aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis* sur l'index phagocytaire K dans le test de l'injection du carbone chez les souris.

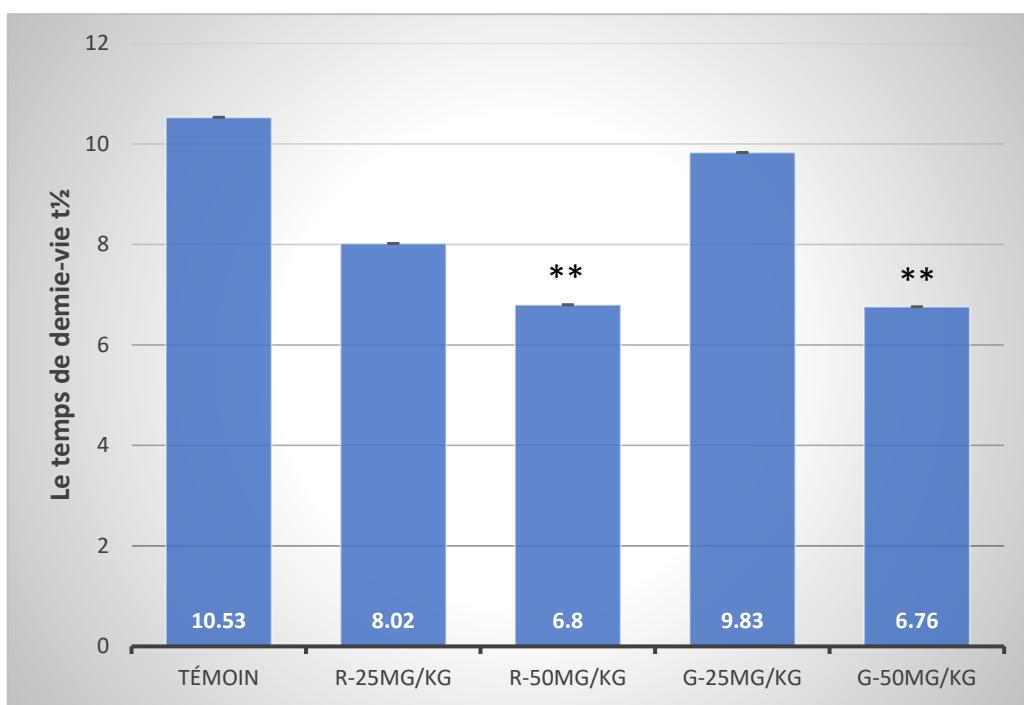
D'après la figure 30, les résultats montrent qu'il y a une différence dans les moyennes de l'index phagocytaire (K) entre les différents groupes Témoin, R-25mg/kg, R-50mg/kg, G-25mg/kg, G50mg/kg.

D'après les statistiques obtenus, on remarque qu'il y a une augmentation hautement significative de l'index phagocytaire chez le groupe traité par (G-50MG/KG) ( $0.31 \pm 0.01$ ), aussi une augmentation modérée chez les groupes traités par (R-25mg/kg, R-50mg/kg, G-25mg/kg) ( $0.17 \pm 0.001$  /  $0.2 \pm 0.001$  /  $0.19 \pm 0.001$ ) respectivement par rapport au groupe témoin ( $0.1 \pm 0.001$ ). Donc L'activité phagocytaire augmente avec l'augmentation de la dose.

Ces deux extraits (R-50mg/kg-50mg/kg) contient une activité phagocytaire élevée mais le *Syzygium Aromaticum* contient une activité plus forte que le *Rosmarinus officinalis*.

### **I-2-2-L'effet d'extrait du *Syzygium Aromaticum* et *Rosmarinus officinalis* sur le temps de demi-vie $t^{1/2}$ :**

Afin de mieux comprendre l'impact de l'extrait du *Syzygium Aromaticum* et du *Rosmarinus officinalis* sur le mécanisme de défense immunitaire en vue d'éliminer l'encre de Chine, ce graphique a été réalisé.



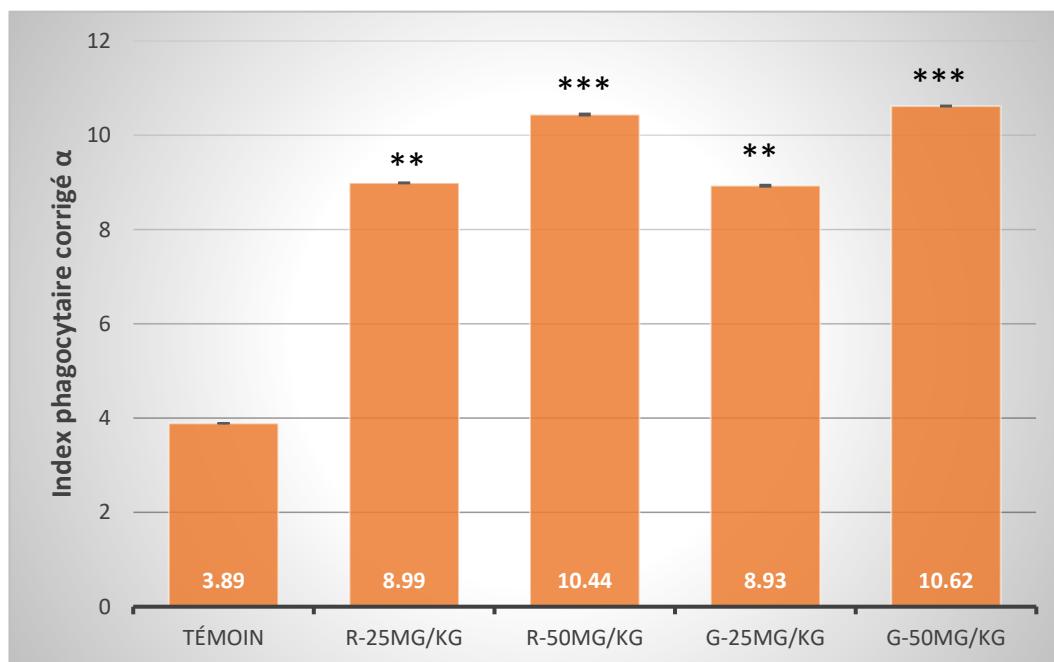
**Figure 31 :** L'effet des extraits de le *Syzygium Aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis* sur le taux de clearance.

L'analyse du graphique représentant le temps de demi-vie ( $T_{1/2}$ ) de l'encre de Chine montre une augmentation hautement significative dans les doses injectées (R-50mg/kg ; G-50mg/kg) ( $6.8 \pm 0.01$  ;  $6.76 \pm 0.01$ ) a comparaison avec le groupe témoin ( $10.53 \pm 0.01$ ) et une simple augmentation significative des groupes injectés (G-25mg/kg ; R-25mg/kg) ( $9.83 \pm 0.01$  ;  $8.02 \pm 0.01$ ) par rapport au groupe témoin ( $10.53 \pm 0.01$ ).

La réduction aux niveaux des doses (R-50mg/kg ; G-50mg/kg) suggère une accélération de l'élimination de l'encre de Chine, indiquant une stimulation de l'activité phagocytaire par ces extraits végétaux.

### I-2-3-L'effet des extraits de *Syzygium Aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis* sur l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ) :

L'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ) est un paramètre important permettant d'évaluer l'efficacité de la réponse phagocytaire des cellules immunitaires. Dans cette étude, nous avons examiné l'effet des extraits de *Syzygium aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis* sur cet index.



**Figure 32 :** L'effet des extraits de *Syzygium Aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis* sur l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ).

Les résultats présentés dans la figure montrent qu'il y a une augmentation hautement significative chez les groupes injecter (R-25mg/kg ; G-25mg/kg) ( $8.99 \pm 0.01$  /  $8.93 \pm 0.02$ ) et une augmentation très hautement significative chez les groupes injecter (R-50mg/kg ; G-50mg/kg) ( $10.44 \pm 0.02$  /  $10.62 \pm 0.01$ ) les deux augmentations par rapport au groupe témoin ; l'augmentation de l'activité phagocytaire corrigée  $\alpha$  est corrélée avec l'augmentation des doses des traitements injectées chez les souris. Au de la, l'augmentation de l'activité phagocytaire peut être associée à l'augmentation du poids du foie et de la rate.

## **II-Discussion**

### **II-1-Les tests biologiques réalisés in vitro :**

Les plantes médicinales jouent un rôle fondamental dans la médecine traditionnelle depuis des siècles. Aujourd’hui, avec l’intérêt croissant pour les remèdes naturels, de nombreux chercheurs s’orientent vers une exploration approfondie de ces plantes dans le but de découvrir leurs composés bioactifs et d’évaluer leurs activités biologiques.

Les plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* ont été prouvé dans plusieurs études avec leurs nombreuses propriétés thérapeutiques qui sont attribuées aux composés bioactifs entrant dans leur composition, tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. C’est le sujet de notre étude dans laquelle le dosage des composées phénoliques, l’activité antioxydante et l’effet immunomodulateur de ces deux plantes ont été évaluées in vitro et in vivo.

Après avoir effectué une analyse comparative des résultats du dosage, on constate que la supériorité des valeurs obtenus à partir de l’extraït aqueux de *Syzygium aromaticum* par rapport au *Rosmarinus officinalis* s’explique par plusieurs facteurs :

La méthode d’extraction, de sorte que l’extraction des polyphénols est influencée par des éléments associés au processus d’extraction lui-même (**Lagha-Benamrouche et al., 2013**), ainsi que par des facteurs génétiques et environnementaux (**Atmani et al., 2009**), la température d’extraction et de conservation de l’extraït avant l’analyse, des conditions climatiques difficiles comme :la température élevée, exposition solaire, sécheresse et la salinité (**Falleh et al., 2008**), la période de récolte, l’emplacement géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, ainsi qu'à la maturité de la plante, en effet, plus la plante est jeune, plus le niveau des composés phénoliques qu’elle contient est élevé (**Park & Cha, 2003**).

Aussi, la variation des teneurs au sein d’un même extraït peut s’expliquer par l’observation de Boussahel (2011) qui a noté que les flavonoïdes constituent la majorité des composés polyphénoliques, justifiant la teneur élevée en composés phénoliques par rapport aux flavonoïdes.

Dans le but de mieux discuter nos résultats, on fait des comparaisons avec des études antérieures afin d’enrichir leur interprétation.

Les résultats obtenus à partir de *Rosmarinus officinalis* sont comparés avec les études réalisées par Bencheikh *et al.* (2024), Kosar *et al.* (2005) et par Aljabri (2020), la teneur en polyphénols totaux trouvées dans l’extraït aqueux des feuilles de *Rosmarinus officinalis* est très élevée que celle rapportée dans notre étude, avec des teneurs de  $455.10 \pm 0.07 \mu\text{g EAG/mg}$ ,  $200 \mu\text{g EAG/mg}$  et  $211 \mu\text{g EAG/mg}$  respectivement. Une étude similaire de Megateli et Krea (2018) a révélé une teneur de  $127.87 \pm 2.1 \mu\text{g EAG/mg}$  pour un extraït prélevé de la région de Médéa, ce qui reste supérieur à nos résultats. De même, Tsai *et al.* (2007) ont montré une teneur estimée à  $98.7 \pm 5.9 \mu\text{g EAG/mg}$  ce qui signifie que notre résultat est encore peu faible. Par contre, Salama *et al.* (2018) ont été trouvé que la teneur des polyphénols dans l’extraït aqueux de romarin issu de la région de Cairo (Egypt) est seulement  $33 \pm 1.20 \mu\text{g EAG/mg}$ , et par Tawaha *et al.* (2007), une valeur de  $48.9 \pm 2.3 \mu\text{g EAG/mg}$ . les deux sont relativement pauvres en polyphénols par rapport à notre extraït.

Pour les flavonoïdes, les valeurs trouvées par Tsai *et al.* (2007), Megateli et Krea (2018) :  $128 \pm 0.8 \mu\text{g EQ/mg}$ ,  $14.48 \pm 1.5 \text{ mg EQ/g}$  respectivement, représentent une teneur plus haute en comparaison avec les valeurs de notre étude. Contrairement, Aljabri (2020) a trouvé une teneur de  $4.32 \text{ mg EQ/g}$  qui est considérée faible par rapport à notre teneur. La recherche de Bencheikh *et al.* (2024) a révélé une valeur de  $7.33 \pm 0.04 \mu\text{g EQ/mg}$  proche à notre.

En ce qui concerne les tanins, les deux recherches de El Oihabi *et al.* (2024), et Bencheikh *et al.* (2024) ont confirmé que notre extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* présente un résultat trop faible contrairement à leur extrait riche en tanins avec des valeurs de  $4.8 \pm 0.1 \mu\text{g EQ/mg}$  et  $135.91 \pm 0.020 \mu\text{g EQ/mg}$  respectivement.

Pour la plante *Syzygium aromaticum*, les taux des Polyphénols totaux et des flavonoïdes obtenus sont nettement supérieurs à ceux rapportés par Indiarto *et al.* (2024) soit  $38,20 \text{ mg EAG/g}$ ,  $7.94 \text{ mg EQ/g}$  respectivement, mais ils restent inférieurs que les teneurs trouvées par El-Mati et al. (2014), soit  $230 \mu\text{g EAG/mg}$  pour les Polyphénols totaux, et  $17,5 \text{ mg EQ/g}$  pour les flavonoïdes.

Tandis que les teneurs en tanins condensés, sont largement inférieurs à ceux de l'extrait acétonique ( $40,53 \text{ mg EAT/g}$ ) rapportés par Nikousaleh et Prakash. (2016). Selon Marco (1968), cette variation des résultats peut être expliquée par la nature et la polarité des solvants utilisés.

Il est courant que les propriétés biologiques des plantes médicinales soient étroitement liées à leur richesse en composés phénoliques, notamment les polyphénols, flavonoïdes et tanins. Ainsi, la mesure de la teneur en ces composés est un indicateur clé pour évaluer l'efficacité antioxydante de l'extrait aqueux des deux plantes étudiées. Parmi les méthodes couramment utilisées pour évaluer l'activité antioxydante : le test de réduction de fer (FRAP)

Les études de **Tsao (2010)** et **Pietta (2000)** ont permis de confirmer l'existence d'une corrélation significative entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante. Leurs travaux ont montré que les composés phytochimiques, en particulier les polyphénols et les flavonoïdes représentent les principaux contributeurs à l'activité antioxydante par leur capacité à neutraliser les radicaux libres, notamment en faisant don d'un électron ou d'un atome d'hydrogène, aussi en inhibant la génération de radicaux libres en bloquant la formation ou en désactivant les espèces actives et leurs précurseurs, ce qui permet de ralentir les processus d'oxydation.

Ceci explique que l'activité antioxydante marquée de *Syzygium aromaticum* est attribuée à sa richesse remarquable en composés phénoliques, notamment sa teneur élevée en flavonoïdes par rapport au *Rosmarinus officinalis*.

La comparaison des valeurs de CE50 obtenues pour nos extraits à partir du test de FRAP a été réalisée en prenant comme référence l'acide ascorbique, dont les données proviennent d'une étude antérieure réalisée selon le protocole de Yildirim *et al.* (2001), identique à celui utilisé dans notre travail. Cette comparaison permet de situer l'efficacité relative des extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* vis-à-vis d'un antioxydant standard reconnu. CE50 de l'acide ascorbique a été calculée à partir de la courbe de régression linéaire (**Annexe16**).

L'acide ascorbique présente une valeur de CE50 bien plus faible ( $0,06 \text{ mg/ml}$ ). Alors, la capacité des extraits des deux plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* de réduire

le Fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique ce qui confirme le fort pouvoir antioxydant de l'acide ascorbique.

Afin de renforcer et confirmer les résultats obtenus par le test de FRAP, nous avons complété notre étude par le test DPPH, qui permet d'évaluer la capacité des extraits à piéger les radicaux libres. Ce test nous a permis de déterminer et comparer les valeurs de IC50 pour chaque extrait étudié.

Selon Bougandoura & Bendimerad (2012), les molécules antioxydantes comme l'acide ascorbique, le tocophérol, les flavonoïdes et les tanins ont la capacité de réduire et de décolorer le DPPH en raison de leur capacité à libérer l'hydrogène. Les composés phénoliques contenus dans nos extraits sont probablement responsables de l'activité antioxydante remarquable des bourgeons floraux de *Syzygium aromaticum* tant qu'ils sont plus riches en ces composés par rapport aux feuilles de *Rosmarinus officinalis*. Sachant que, l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais aussi de la structure et la nature des antioxydants (**Falleh et al., 2008**).

Dans le but de mieux interpréter ces résultats, une comparaison a été effectuée avec un antioxydant de référence, l'acide ascorbique, largement reconnue par sa forte activité antioxydante. La comparaison sera établie avec la valeur de IC50 de l'acide ascorbique rapportées dans une autre étude ayant suivi le même protocole expérimental que le nôtre (**Kuramasamy et al., 2007**). Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hebi et Eddouks, 2016**).

D'après les résultats l'IC50 obtenu pour l'acide ascorbique égale à 5,01 µg/ml (0,00501mg/ml). La valeur obtenue pour cette molécule de référence, est bien inférieur à ceux des extraits donc, elle présente une efficacité supérieure à piéger le radical libre DPPH.

### **II-2-Les tests biologiques réalisés in vivo :**

L'activité phagocytaire joue un rôle essentiel dans la défense immunitaire, en permettant aux cellules phagocytaires, telles que les macrophages, d'ingérer et de détruire les agents pathogènes. L'encre de Chine est fréquemment utilisée comme modèle expérimental pour évaluer cette activité, car elle est facilement reconnue par les cellules du système immunitaire. Dans cette étude, nous nous intéressons à la capacité de certains extraits végétaux, notamment ceux de *Syzygium aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis*, à stimuler ou moduler l'activité phagocytaire. Ces plantes sont reconnues pour leurs propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, ce qui suggère un effet bénéfique potentiel sur la réponse immunitaire.

Les résultats obtenus avec l'extrait de *Rosmarinus officinalis*, concernant l'indice phagocytaire dans le groupe traité (R-50 mg/kg), indiquent que cet extrait a favorisé une prolifération plus importante des macrophages péritonéaux par rapport au groupe traité avec la dose (R-25 mg/kg), qui a également présenté une activité phagocytaire, mais à un niveau inférieur à celui observé avec la dose de 50 mg/kg.

Ainsi, l'extrait de *Rosmarinus officinalis* semble favoriser la production de TNF-α. Des résultats similaires ont été rapportés par **Collett et al., 2004** et **Kunnumakkara et al., 2007**, qui ont montré que les composés polyphénoliques présents dans l'extrait peuvent stimuler la chimiotaxie des macrophages, la phagocytose, l'activité antimicrobienne, l'action des cellules NK, ainsi que la prolifération des lymphocytes et la sécrétion d'interleukine-2.

De plus, les études de **Kim et al., 2003** ; **Camacho-Barquero et al., 2007** ; **Nonn et al., 2007** ; **Shakibaei et al., 2007** ont mentionné une implication des cytokines IL-1 $\beta$ , IL-8 et TNF- $\alpha$  dans la modulation de la réponse immunitaire.

Les résultats obtenus avec l'extrait de *Syzygium aromaticum*, à la dose de (G-50 mg/kg), suggèrent que cet extrait exerce des effets sur l'état d'activation des macrophages au moment de l'exposition. Il provoque notamment une inhibition de la production de TNF- $\alpha$ , PGE-2, et module l'action de la COX-2.

Des résultats similaires ont été observés dans l'étude de **Pishkhan Dibazar S et al., 2014**, menée sur des cellules spléniques de souris cultivées avec des agents bloquant leur prolifération. Les auteurs ont rapporté qu'après l'ajout de l'extrait de *Syzygium aromaticum*, la prolifération des splénocytes stimulés a diminué. Ces splénocytes traités ont montré une suppression de la libération d'IFN- $\gamma$  ( $62,17 \pm 5,93$  ng/ml), accompagnée d'une induction de la sécrétion d'IL-4, d'IL-10 et de TGF- $\beta$  (à des concentrations allant de 0,1 à 1 000  $\mu$ g/ml). Ainsi, *Syzygium aromaticum* pourraient supprimer l'immunité cellulaire des lymphocytes T ( $p < 0,05$ ), tout en améliorant les réponses immunitaires humorales ( $p > 0,05$ ).

Alors, l'activité phagocytaire augmente avec l'augmentation de la dose. En effet, plus la dose administrée est élevée, plus la réponse phagocytaire est amplifiée. Dans notre étude, *Syzygium aromaticum* a montré une activité phagocytaire plus élevée que celle observée avec *Rosmarinus officinalis*.

La demi-vie (T1/2) de l'encre de Chine dans l'organisme des souris constitue un indicateur pertinent pour évaluer la rapidité de son élimination par le système immunitaire, notamment grâce à l'activité des cellules phagocytaires.

Dans cette étude, nous avons examiné l'effet des extraits de *Syzygium aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis* sur cette élimination. Étant donné leurs propriétés immunostimulantes, ces extraits pourraient accélérer la réponse phagocytaire. L'analyse des résultats permet de mieux comprendre l'impact de ces plantes sur l'efficacité du système immunitaire à éliminer les particules étrangères.

Le taux de clairance diminue avec l'augmentation de la dose, comme cela a été observé par rapport au groupe témoin. Cette diminution de la concentration des particules d'encre de Chine s'accompagne d'une augmentation de l'indice phagocytaire K, traduisant une sensibilisation du système phagocytaire.

La demi-vie (T1/2) chez les groupes injectés avec R-50 mg/kg et G-50 mg/kg est plus courte que celle observée chez les groupes traités avec R-25 mg/kg et G-25 mg/kg, ce qui indique qu'une dose plus élevée favorise une élimination plus rapide des particules d'encre de Chine. L'effet est plus marqué avec l'extrait de *Syzygium Aromaticum*, ce qui pourrait refléter une différence dans la composition ou la puissance des composés actifs présents dans chaque extrait.

Notre étude vise aussi à évaluer l'effet de ces extraits sur l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ), un indicateur clé de l'activité phagocytaire des cellules immunitaires.

Par comparaison, le groupe traité avec G-25 mg/kg présente un indice phagocytaire proche de celui observé avec G-50 mg/kg, mais légèrement inférieur, ce qui confirme l'idée que « l'augmentation de l'activité phagocytaire corrigée  $\alpha$  est corrélée à l'augmentation des doses des traitements administrés chez les souris ».

Les résultats obtenus chez les groupes injectés avec G-50 mg/kg indiquent que *Syzygium aromaticum*, en tant qu'antioxydant naturel, atténue l'hépatotoxicité induite par un agent毒, en l'occurrence l'encre de Chine dans notre étude. Cette évaluation repose généralement sur l'analyse des biomarqueurs d'hépatotoxicité tels que l'ASAT, l'ALAT, la PAL, ainsi que l'examen histopathologique (notamment le gonflement hépatique chez les souris).

Ces observations rejoignent celles rapportées dans l'étude de **Sheweita, S. A. et al., 2016**, qui visait à évaluer le rôle des huiles essentielles, notamment *Syzygium aromaticum*, dans la réduction de la toxicité du cyclophosphamide, un médicament connu pour inhiber les activités de la superoxyde dismutase (SOD), de la glutathion réductase (GR) et de la catalase (CAT), ainsi que l'expression protéique de la glutathion S-transférase (GST $\pi$ ) et de la glutathion peroxydase (GPx). La combinaison de *Syzygium aromaticum* avec le traitement a permis de restaurer les activités enzymatiques antioxydantes (SOD, CAT, GR, GST, GPx) perturbées par le cyclophosphamide.

Concernant les souris traitées avec R-25 mg/kg, l'indice phagocytaire est similaire à celui observé avec R-50 mg/kg, mais légèrement réduit, ce qui confirme également que l'activité phagocytaire corrigée  $\alpha$  augmente avec les doses administrées.

Les composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* semblent également capables d'atténuer l'hépatostéatoze induite soit par certaines pathologies, soit par des effets secondaires médicamenteux. Dans le cadre de notre étude, l'agent toxique utilisé était l'encre de Chine.

Cette conclusion est en accord avec l'étude de **Rong Mei Zuo et al., 2022**, qui a montré que *Rosmarinus officinalis* améliore l'accumulation lipidique hépatique en inhibant les gènes responsables de la synthèse des lipides dans les cas d'hépatostéatoze. De plus, cet extrait réduit l'infiltration des cellules immunitaires induite par la consommation d'alcool, laquelle entraîne une augmentation des taux sériques d'ALAT et d'ASAT. Le traitement avec *Rosmarinus officinalis* a conduit à une diminution significative de ces paramètres hépatiques, témoignant de ses propriétés hépatoprotectrices.

Ainsi, les résultats de notre étude mettent en évidence une différence notable dans l'effet immunostimulant des extraits testés. En effet, l'extrait de *Syzygium aromaticum* a montré une capacité plus marquée à stimuler l'activité phagocytaire comparativement à *Rosmarinus officinalis*. Cette différence est particulièrement évidente à travers l'index phagocytaire corrigé ( $\alpha$ ), qui s'est révélé significativement plus élevé chez les souris traitées avec *Syzygium aromaticum*.

Ce résultat suggère que les composés bioactifs, notamment l'eugénol présent dans *Syzygium aromaticum*, pourraient jouer un rôle clé dans l'activation des mécanismes de défense immunitaire. À l'inverse, bien que *Rosmarinus officinalis* possède également des propriétés immunomodulatrices, son effet sur l'index phagocytaire semble moins prononcé dans le modèle expérimental utilisé.



## *Conclusion et perspectives*

## *Conclusion et perspectives*

---

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques qui possède des propriétés antioxydantes et immunitaires.

Dans ce contexte de recherche de nouvelles molécules naturelles, nous nous sommes intéressés à effectuer une étude phyto-chimique sur la plante médicinale *Syzygium aromaticum* et *Rosmarinus officinalis*, ainsi une évaluation des activités antioxydantes et l'effet immunomodulateur de l'extrait aqueux de ces plantes.

- L'étude phytochimique de l'extrait de *Syzygium aromaticum* et *Rosmarinus officinalis* a montré que les deux extraits sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes.
- L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux dans les différents tests utilisés (DPPH, FRAP) a montré que l'extrait des deux plantes possède une capacité d'inhibition des radicaux libres, et cela est dû à la qualité des phénols et des flavonoïdes présentes dans les extraits.
- Les résultats de l'étude *in vivo* ont clairement indiqué que le prétraitement des souris à deux doses croissantes avec l'extrait de deux plantes a montré que *Syzygium aromaticum* possède un effet immunomodulateur plus élevés que celui de *Rosmarinus officinalis*.

### Perspectives

- ❖ Développer des formulations à base de ces extraits pour la prévention ou le traitement de maladies chroniques (diabète, maladies cardiovasculaires, infections...).
- ❖ Identifier et quantifier précisément les différents types de polyphénols présents dans ces plantes à l'aide de techniques avancées (HPLC, spectrométrie de masse...).
- ❖ Étudier l'usage des extraits de *Syzygium aromaticum* et de *Rosmarinus officinalis* comme conservateurs naturels, antioxydants alimentaires ou ingrédients dans les produits cosmétiques.
- ❖ Lancer des essais cliniques pour valider les effets bénéfiques des polyphénols de ces plantes sur la santé humaine.



# *Annexes*

### **Annexe1 : préparation de Na<sub>2</sub>Co<sub>3</sub> (7,5%)**

- Na<sub>2</sub>Co<sub>3</sub> :7,5g
- Eau distillée :100ml

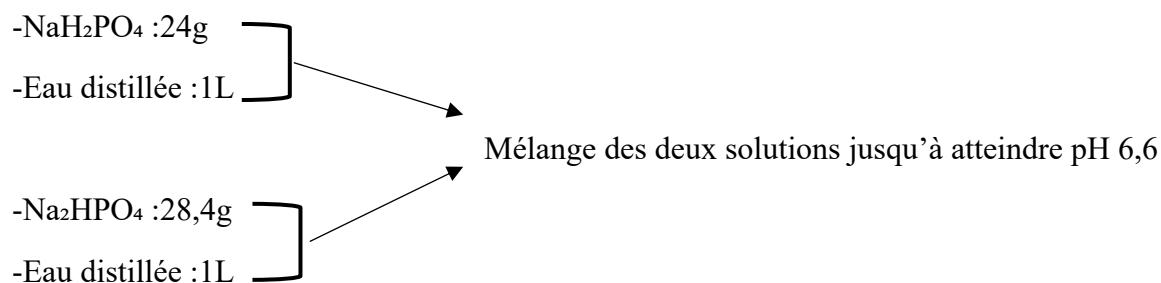
### **Annexe2 : préparation de AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol)**

- AlCl<sub>3</sub> :2g
- Méthanol :100ml

### **Annexe3 : préparation de la vanilline (4% dans le méthanol)**

- vanilline :2g
- Méthanol :100ml

### **Annexe4 : préparation de tampon phosphate à 0,2 M (pH 6,6)**



### **Annexe5 : préparation de ferricyanure de potassium 1%**

- Ferricyanure de potassium :1g
- Eau distillée :100ml

### **Annexe6 : préparation de TCA (10%)**

- TCA :10g
- Eau distillée :100ml

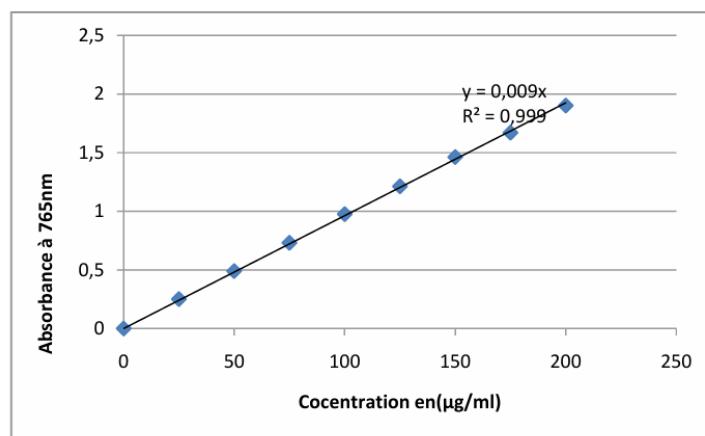
### **Annexe7 : préparation de FeCl<sub>3</sub> (0,1%)**

- FeCl<sub>3</sub> : 0,1g.
- Eau distillée :100ml

### **Annexe8 : Protocole du dosage des polyphénols totaux**

- 200 $\mu$ l de l'extrait (4mg/ml) est mélangé avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois dans de l'eau distillée).
- Après quatre minutes, 800 $\mu$ l de Na2Co3 (7,5%) sont ajoutés. Suite à une agitation, le mélange est mis à l'ombre pour une incubation de deux heures.
- Un spectrophotomètre mesure l'absorbance à 765nm.
- La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200  $\mu$ g /ml).
- Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un milligramme de l'extrait ( $\mu$ g Eq AG/mg d'extrait).

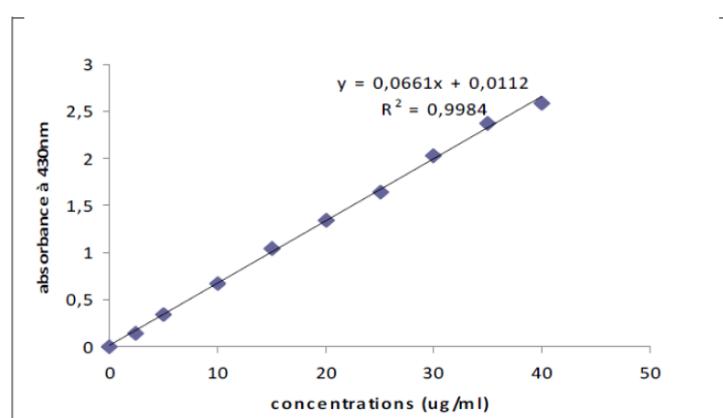
### **Annexe9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**



### **Annexe10 : Protocole du dosage des flavonoïdes**

- 1ml de l'échantillon (préparé dans l'eau distillée pour l'extrait AQ) est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl3 (2% dans le méthanol).
- Un spectrophotomètre mesure l'absorbance du produit jaune à 430 nm.
- Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-35  $\mu$ g/ml) et sont exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ( $\mu$ g EQ/mg d'extrait).

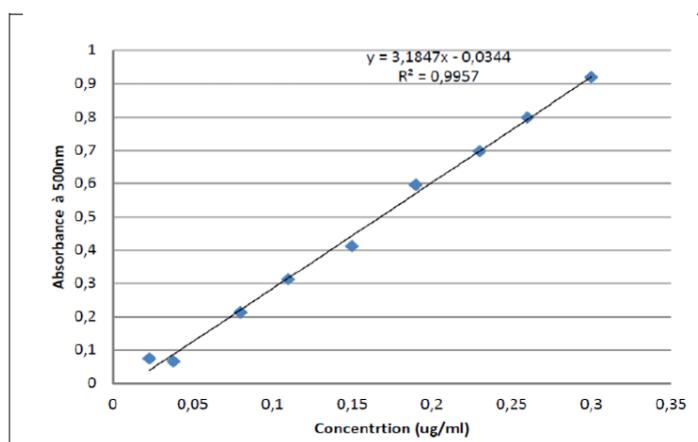
### **Annexe11 : Courbe d'étalonnage de la quercétine**



## **Annexe12 : Protocole du dosage des tanins condensés**

- Pour chaque 400 $\mu$ l de l'échantillon ou du standard,
- on ajoute 3ml d'une solution de vanilline (à 4% dans le méthanol) et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré.
- On incube le mélange pendant 15 minutes et on mesure l'absorbance à 500 nm.
- Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-300 $\mu$ g/ml), et sont exprimées en microgramme d'équivalent catéchine par milligramme d'extrait ( $\mu$ g ECT/mg).

## **Annexe13 : Courbe d'étalonnage de la catéchine**



## **Annexe14 : Le protocole expérimental utilisé dans le test de FRAP**

- Un millilitre de l'extrait, en diverses concentrations est combiné avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K3Fe(CN)6 à 1%. Le tout est incubé dans un bain-marie à une température de 50°C pour une durée de 20 minutes.
- on ajoute 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% pour interrompre la réaction.
- Les tubes sont soumis à une centrifugation à 3000 tours/minute pendant une durée de 10 minutes.
- Une portion (2,5ml) du surnageant est mélangée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution d'FeCl3 en phase aqueuse à 0,1%.
- On mesure l'absorbance du milieu réactionnel à 700 nm. Le blanc est préparé de manière similaire, où l'extrait est substitué par de l'eau distillée ou du méthanol.

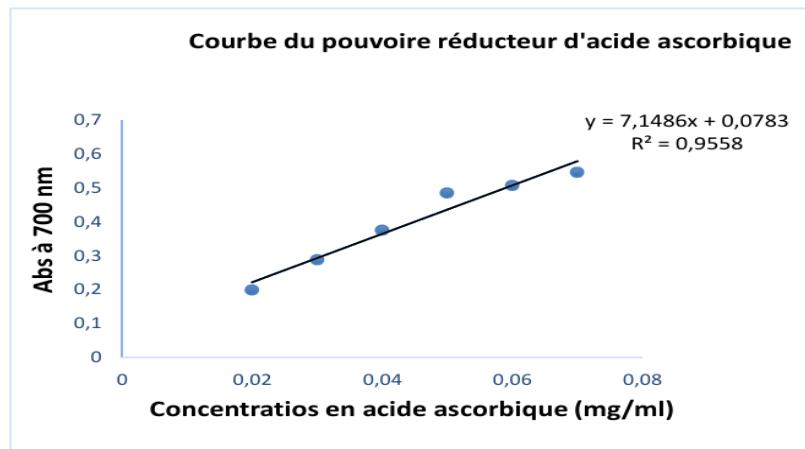
## **Annexe15 : Le protocole expérimental utilisé dans le test de piégeage de DPPH**

- Brièvement, 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,2 mM) a été mélangé avec 1ml de différentes dilutions des extraits de plante (0-1 mg/ml).
- Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm
- La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\% \text{ PI} = \frac{\text{densité optique du blanc-dansite Optique de l'échantillon}}{\text{densité optique du blanc}} \times 100$$

- La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC50); la valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC50 est exprimée en µg/ml

#### **Annexe16 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.**



#### **Annexe17 : préparation de la solution d'encre de carbone**

-3 ml d'encre chine

-4 ml de NaCl

-4 ml de solution de gélatine à 3% (3g dans 100 ml eau distillée)



# *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

### «A»

- Abdel-Wahhab KGE, El-Shamy KA, El-Beih NAE, Moryc FA, Manna FAE (2011) Protective effect of a natural herb (*Rosmarinus officinalis*) against hepatotoxicity in male albino rats. *Comunicata Scientiae* 2(1): 9-17.
- Afonso MS, Ana Mara de O Silva, Eliane BT Carvalho, Diogo P Rivelli, Sílvia BM Barros, et al. (2013) Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations I diet-induced hypercholesterolemic rats. *Nutrition & Metabolism* 10: 19.
- Al Sereitia MR, Abu Amerb KM, Sena P (1999) Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian Journal of Experimental Biology* 37(2): 124-131.
- Aljabri M. 2020. Composition and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract. *Eurasian Journal of Biosciences*, 14: 2179-2185.
- Alsheyab, Fawzi & Abuharfeil, Nizar & Salloum, Lina & Banihani, Rehan & Saleh, Dalal. (2011). The Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) Plant Extracts on the Immune Response and Lipid Profile in Mice. *Journal of Biology and Life Science*. 3. 10.5296/jbls.v3i1.906.
- Amawi, H., Ashby, C. R., Samuel, T., Peraman, R., & Tiwari, A. K. (2017). Polyphenolic Nutrients in Cancer Chemoprevention and Metastasis: Role of the Epithelial-to-Mesenchymal (EMT) Pathway. *Nutrients*, 9(8), 911. <https://doi.org/10.3390/nu9080911>
- Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future science OA*, 4(4), FSO283. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>
- Andrade, Joana M & Faustino, Célia & Garcia, Catarina & Ladeiras, Diogo & Reis, Catarina & Rijo, Patrícia. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Science OA*. 4. FSO283. 10.4155/fsoa-2017-0124.
- Andrés, C. M. C., Pérez de la Lastra, J. M., Juan, C. A., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2023). Polyphenols as antioxidant/pro-oxidant compounds and donors of reducing species: Relationship with human antioxidant metabolism. *Processes*, 11(9), 2771. <https://doi.org/10.3390/pr11092771>
- Atanu Kumar Das, Md. Nazrul Islam, Md. Omar Faruk, Md. Ashaduzzaman, Rudi Dungani, Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities, South African Journal of Botany, Volume 135, 2020, Pages 58-70, ISSN 0254-6299, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629920310267>)
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2011). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*. 112: 303-309.

## «B»

B Shan, YZ Cai, M Sun, H CorkeCapacité antioxydante de 26 extraits d'épices et caractérisation de leurs constituants phénoliquesJ Agric Food Chem, 53 (20) (2005), pp. 7749 – 7759.

Bachiega TF, de Sousa JP, Bastos JK, Sforcin JM. Clove and eugenol in noncytotoxic concentrations exert immunomodulatory/anti-inflammatory action on cytokine production by murine macrophages. *J Pharm Pharmacol.* 2012 Apr;64(4):610-6. doi: 10.1111/j.2042-7158.2011.01440.x. Epub 2012 Feb 7. PMID: 22420667.

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

Bao, L. M., Nozaki, A., Takahashi, E., Okamoto, K., Ito, H., & Hatano, T.(2012). Biological effects of essential oils.

Begum, A., Sandhya, S., Ali, S., Ravindran, V., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 12(1), 61–74.

Bellakhdar J.1997.La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed).Paris, 764 p.

Beloued A. 1998.Plantes médicinales d'Algérie. 2ème Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274p.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A. & Del Rio, J.A. (1997). Uses and properties of Citrus flavonoids. *J. Agric. Food Chem*, 45, 4505-4515.

-Benincá JP, Dalmarco JB, Pizzolatti MG, Fröde TS.(2011). Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. *Food Chem.* 124(2), 468–475 .Crossref, CAS, Google Scholar.

Bešlo, D., Golubić, N., Rastija, V., Agić, D., Karnaš, M., Šubarić, D., & Lučić, B. (2023). Antioxidant activity, metabolism, and bioavailability of polyphenols in the diet of animals. *Antioxidants*, 12(6), 1141. <https://doi.org/10.3390/antiox12061141>

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Stress oxydatif et défense antioxydant. Journal de l'Organisation mondiale de l'allergie. Janvier 2012 ;2012:9-19

Bolat, E., Sarıtaş, S., Duman, H., Eker, F., Akdaşçı, E., Karav, S., & Witkowska, A. M. (2024). Polyphenols: Secondary Metabolites with a Biological Impression. *Nutrients*, 16(15), 2550. <https://doi.org/10.3390/nu16152550>

Borges, R.S., Sánchez Ortiz, B., L., Matias Pereira, A.C., Keita, H., Tavares Carvalho, J.C., 2019. Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* : revue de sa phytochimie, de son activité anti-inflammatoire et des mécanismes d'action impliqués. *J. Ethn.* 229 : 29- 45.

Bossokpi, I.P.L. (2002). Etude des activités biologiques de Fagara xanthoxyloïdes LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, 133p.

-Botsoglou N, Taitzoglou I, Zervos I, Botsoglou E, Tsantarliotou M, Chatzopoulou PS. (2010). Potential of long-term dietary administration of rosemary in improving the antioxidant status of rat tissues following carbon tetrachloride intoxication. *Food Chem. Toxicol.* 48(3), 944–950 .Crossref, Medline, CAS, Google Scholar.

Boufenghour, F., Kamah, A. (2020). Les ouvreurs des canaux potassiques et activité antioxydante. [Mémoire de master], Université Mohamed Seddik Ben Yahia Jijel, Algérie, 73p.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, (9), 14 – 19.

Boullard B. 2001. Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed) Paris .660 p.

Boussahel S. 2011. Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbes, Sétif, 74p.

Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.

Brunteno j. (2009). Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales 4eme édition Lavoisier, paris France.

Bulbul A, Bulbul T, Biricik H, Yesilbag D, Gezen SS (2012) Effects of various levels of rosemary and oregano volatile oil mixture on oxidative stress parameters in quails. *African Journal of Biotechnology* 11(8): 1800-1805.

Bule, M., Khan, F., Nisar, M. F., Niaz, K., Ambo University, Capital University of Science and Technology, & Louisiana State University. (2020). Tannins (hydrolysable tannins, condensed tannins, phlorotannins, flavono-ellagittannins).

## «C»

Camacho-Barquero, L. ; Villegas, I. ; Sanchez-Calvo, J.M. ; Talero, E. ; Sanchez-Fidalgo, S. ; Motilva, V. and Alarcon de la Lastra, C. (2007). Curcumin, a *Curcuma longa* constituent, acts on MAPK p38pathway modulating COX-2 and iNOS expression in chronic experimental colitis. *Int.Immunopharmacol.*, 7: 333-342.

Camacho-Barquero, L.; Villegas, I.; Sanchez-Calvo, J.M.; Talero, E.; Sanchez-Fidalgo, S.;Motilva, V. and Alarcon de la Lastra, C. (2007). Curcumin, a *Curcuma longa* constituent, acts on MAPK p38pathway modulating COX-2 and iNOS expression in chronic experimental colitis. *Int.Immunopharmacol.*, 7: 333-342.

Carrasco FR, Schmidt G, Romero AL, Sartoretto JL, Caparroz-Assef SM, Bersani-Amado CA, Cuman RK. Immunomodulatory activity of *Zingiber officinale* Roscoe, *Salvia officinalis* L. and *Syzygium aromaticum* L. essential oils: evidence for humor- and cell-mediated responses. *J Pharm Pharmacol.* 2009 Jul;61(7):961-7. doi: 10.1211/jpp/61.07.0017. PMID: 19589240.

Carr, A., and B. Frei (1999). Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 13:1007-1024.

Chandrasekara, A.; Shahidi, F. Content Of Insoluble Bound Phenolics In Millets And Their Contribution To Antioxidant Capacity. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 6706-6714 .

Chérifa BOUBEKRI. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat. Université Mohamed Khider – Biskra.

Clifford M.N. (1999). Appendix 1.A Nomenclature For Phenols With Special Reference To Teawashington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida.41 (5): 393-397.

Collett, G.P. and Campbell, F.C. (2004). Curcumin induces c-jun N-terminal kinase-dependent apoptosis in HCT116 human colon cancer cells. *Carcinogenesis*, 25: 2183-2189.

Collett, G.P. and Campbell, F.C. (2004). Curcumin induces c-jun N-terminal kinase-dependent apoptosis in HCT116 human colon cancer cells. *Carcinogenesis*, 25: 2183-2189.

## «D»

Dai J., et Mumper R. J. (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Proprieties. *Molecules*, 15(10): p7313-52.

Dalila, Bencheikh & Laichi, Khawla & Herizi, Chemseddine & Azi, Mebarka & Khennouf, Seddik & Dahamna, Ssaliha. (2024). Rosmarinus Officinalis: Phytochemical analysis and biological activities. *Bionatura*. 1. 1-12. 10.21931/BJ/2024.01.01.35.

Dansen, T. B., & Wirtz, K. W. (2001). The peroxisome in oxidative stress. *IUBMB life*, 51(4), 223-230.

Debuigne G., Couplan F. 2009. Petit larousse des plantes médicinales .1 ère édition. Larousse, p 383.

Druzynka, B., Stepniewska, A. & Wolosiak, R. (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6, 27-36.

## «E»

El Oihabi, K., Bouziani Idrissi, M., El Kamli, T., El Hamdani, M., Eloutassi, N., Boutagayout, A., & Bour, A. (2024). Comprehensive analysis of Moroccan middle atlas rosemary: Phytochemical profiling, antioxidant activity, and molecular docking. *BIO Web of Conferences*.

Elie, F. & french governmental institution. (2022, December). Les phénols et les polyphénols. ResearchGate. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/366311370>

El-Maati, M. F. A., Mahgoub, S. A., Labib, S. M., Al-Gaby, A. M., & Ramadan, M. F. (2016). Phenolic extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) with novel antioxidant and antibacterial activities. *European journal of integrative medicine*, 8(4), 494-504.

Escuder O. 2007. Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, 255p

## «F»

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly C. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies. Vol.331. (2008). pp. 372-379.

FAVIER A. Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'act. chim*, 2003: 108-115.

## «G»

Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxyie) et effet de la GliSODin. [Thèse de doctorat], Université Joseph Fourier-Grenoble1, France, 196p.

Gee, J.M. ET Johnson, I.T. (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. Current Medicinal Chemistry. 8: 1-182.

Georgetti S.R., Casagrande R., Dimiro V.M., Ana A., et al. Evaluation of the antioxidant activity of diffrent flavonoids by the chemiluminescence methode. AAPS pharmsci .

Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R. (2010) Syzygium aromaticum (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier, Phytothérapie, 8, 37-43.

González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): An Ancient Plant with Uses in Personal Healthcare and Cosmetics. *Cosmetics*, 7(4), 77. <https://doi.org/10.3390/cosmetics7040077>

GP Kamatou , I Vermaak , AM Viljoen L'eugénol — des îles éloignées des Moluques au marché international : une analyse d'une molécule remarquable et polyvalente.

## «H»

Hamidpour, Rafie & Hamidpour, Soheila. (2017). Rosmarinus Officinalis (Rosemary): A Novel Therapeutic Agent for Antioxidant, Antimicrobial, Anticancer, Antidiabetic, Antidepressant, Neuroprotective, Anti-Inflammatory, and Anti-Obesity Treatment. BISTR.MS. 1. 2017. 10.26717/BJSTR.2017.01.000371.

Hano, C., & Tungmannithum, D. (2020). Plant Polyphenols, More than Just Simple Natural Antioxidants: Oxidative Stress, Aging and Age-Related Diseases. *Medicines* (Basel, Switzerland), 7(5), 26. <https://doi.org/10.3390/medicines7050026>

Hebi, M., & Eddouks, M. (2016). Evaluation de l'activité antioxydante de Stevia rebaudiana. Phytothérapie, 14, 17 – 22.

Herbert, V. (1994). The antioxidant supplement myth. Am. J. Clin. Nutr. 60:157-158.

Hininger , Favier, A. (2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108(10), 863-832.

## «I»

Indiarto R., Herwanto JA., Filiany F., Lembong E., Subroto E., & Muhammad DRA. (2024). Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and characteristics of a chocolate beverage incorporated with encapsulated clove bud extract. CyTA-Journal of Food, 22(1), 2329144.

## «J»

Janero, D.R. (1991). Therapeutic potential of vitamin E against myocardial ischemic-reperfusion injury. Free Radic. Biol. Med. 10:315-324.

Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: Outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. International Journal of Molecular Sciences, 22(9), 4642. <https://doi.org/10.3390/ijms22094642>

## «K»

Kahkahi RE, Moustaine M, Zouhair R. Salvia Rosmarinus: A Comprehensive Review of its Phytochemical Composition and Pharmacological Properties. Int J PharmSci Dev Res. 2025;11(1):001-005. DOI: <https://dx.doi.org/10.17352/ijpsdr.000055>

Kamatou, G. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M. (2012). Eugenol from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. Molecules, 17(6), 6953-6981.

Kim, H.Y.; Park, E.J.; Joe, E.H. and Jou, I. (2003). Curcumin suppresses Janus kinase-STAT inflammatory signaling through activation of src homology 2 domain containing tyrosine phosphatase 2 in brain microglia. J. Immunol., 171 : 6072-6079.

Kim, H.Y.; Park, E.J.; Joe, E.H. and Jou, I.(2003). Curcumin suppresses Janus kinase-STAT inflammatory signaling through activation of src homology 2 domain containing tyrosine phosphatase 2 in brain microglia. J. Immunol., 171: 6072-6079.

Kompelly A, Kompelly S, Vasudha B, Narender B, Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity, Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2019; 9(1):323-330 DOI: <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i1.2218>

Kosar M., Dorman H. J. D., Hiltunen R. 2005. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. Food Chemistry 91: 525–533.

Kuete, V. (2017). Chapter 29 Syzygium aromaticum Medicinal Spices and Vegetables from Africa (pp. 611-625): Academic Press.

Kunnumakkara, A.B.; Guha, S.; Krishnan, S.; Diagaradjane, P.; Gelovani, J. and Aggarwal, B.B. (2007). Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor kappa B-regulated gene products. Cancer Res., 67:3853-3861.

## «L»

Lagha-Benamrouche, S., Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. Industrial Corps and Products. 50: (723-730).

Lamblin, F., Hano, C., Fliniaux, O., Mesnard, F., Fliniaux, M. A., & Lainé, E. (2008). Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers [Interest of lignans in prevention and treatment of cancers]. Medecine sciences : M/S, 24(5), 511–519. <https://doi.org/10.1051/medsci/2008245511>.

Lee S, Najiah M, Wendy W et Nadirah M. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* flower bud (Clove) against fish systemic bacteria isolated from aquaculture sites. Front. Agric. China, 3(3): 332±336.

Lobstein A., Couic-Marinier F., Barbelet S. (2017). Huile essentielle de clou de girofle .Elsevier Masson SAS, (569), 59-61.

## «M»

M'CILI, M ., MELGHID, I. (2020). Le rôle des plantes médicinales dans la prévention contre les dommages oxydatifs. [Mémoire de master], Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie ,111p.

Macheix J-J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P., 2006. Composés phénoliques dans les plantes. Structure, biosynthèse, répartition et rôles, 1-28

Mansour, Mogda. (2011). Influence of Rosemary Extract on Immune Responses and Oxidative Stress in Mice Intoxicated by Aflatoxins. *Nature and Science* 2011;9(10):54-63]. (ISSN: 1545-0740). <http://www.sciencepub.net>.

Marco JG. Quot A. (1968). Rapid method for evaluation of antioxidants quot; Journal of the American Oil Chemists' Society, 1968, Vol. (45), page : 594.

Marion L., 2015. Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L. une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie, 229p.

Megateli S., Krea M. 2018. Enhancement of total phenolic and flavonoids extraction from *Rosmarinus officinalis* L using electromagnetic induction heating (EMIH) process. *Physiol Mol Biol Plants*.

Meziane, H., Zraibi, L., Albusayr, R. et al. *Rosmarinus officinalis* Linn.: unveiling its multifaceted nature in nutrition, diverse applications, and advanced extraction methods. *J.Umm Al-Qura Univ. Appl. Sci.* 11, 9–37 (2025). <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00144-y>

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. médecine/sciences, 27(4), 405-412.

Morin J., Malhuret R. and Bastide P. (1983). Aromathérapie. Exemples de la réalisation pratique de l'utilisation des huiles essentielles et thérapeutique. ISSN 0992-9406.

## «N»

N.C. Cook, S. Samman, Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Volume 7, Issue 2, 1996, Pages 66-76, ISSN 09552863, [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(95\)00168-9](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(95)00168-9). (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286395001689>)

Nikousaleh A., & Prakash J. (2016). Antioxidant components and properties of dry heat treated clove in different extraction solvents. *Journal of food science and technology*, 53, 1993-2000.

Nonn, L.; Duong, D. and Peehl, D.M. (2007). Chemopreventive anti-inflammatory activities of curcumin and other phytochemicals mediated by MAP kinase phosphatase-5 in prostate cells. *Carcinogenesis*, 28: 1188-1196

## «P»

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5), 270-278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>

Park, Hye-Jeong & Cha, Hyeon-Cheol. (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the Grape Kyoho. *Korean Journal of Biological Sciences*. 7. 327-330. 10.1080/12265071.2003.9647723.

Pietta P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035–1042. <https://doi.org/10.1021/np9904509>

Pishkhan Dibazar S., Fateh S., Daneshmandi S. Clove (*Syzygium aromaticum*) ingredients affect lymphocyte subtypes expansion and cytokine profile responses : An in vitro evaluation. *J Food Drug Anal.* 2014 Dec ;22(4) :448-454. Doi : [10.1016/j.jfda.2014.04.005](https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.04.005). PubMed PMID : 28911459.

Portes E. (2008). Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes : propriétés photochimiques et antioxydantes : applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. These de Doctorat de l'Université de Bordeaux 1, France.

Powers, S.K., and M.J. Jackson (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* 88:1243-1276.

## «R»

RA Oliveira , FF Oliveira , CK Sacramento[Huiles essentielles : perspectives pour les épices agroalimentaires à Bahia]Bahia Agric , 8 ( 1 ) ( 2007 ) , pp. 46 – 48Portugais.

RA Oliveira , TV Reis , CK Sacramento , LP Duarte , FF OliveiraConstituants chimiques volatils des épices riches en eugénolRév Bras Farmacognosia , 19 ( 3 ) ( 2009 ) ,pp. 771 - 775.

Rahman, I., Biswas, S.K. & Kirkham, P.A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72, 1439-1452.

Raja, P., Rahim, A., Qureshi, A. & Awang, K. Green synthesis of silver nanoparticles using tannins. *Materials Science-Poland*, 2014, *Sciendo*, vol. 32 no. 3, pp. 408-413. <https://doi.org/10.2478/s13536-014-0204-2>

Rajeev K Singla, Ashok K Dubey, Arun Garg, Ramesh K Sharma, Marco Fiorino, Sara M Ameen, Moawiyah A Haddad, Masnat Al-Hiary, Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, Volume 102, Issue 5, 1 September 2019, Pages 1397–1400, <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1397>

Rouaki, F. (2016). Effets de l'ingestion de l'huile de tournesol oxydée et de la supplimentation en alpha-tocopherol sur certains paramètres structuraux et fonctionnels du tissu cardiaque chez le rat en croissance. [Thèse doctorat], école supérieurs El-Harrach, Algérie, 151p.

## «S»

Salama W. H., Abdel-Aty A. M., Fahmy A. S. 2018. Rosemary leaves extract: Anti-snake action against Egyptian Cerastes venom. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8: 465-475.

Samuelsson G, Bohlin L (2001) Drugs of natural origin: a treatise of pharmacognosy, 6th edn. Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm

Shakibaei, M.; John, T.; Seifarth, C. and Mobasher, A. (2007). Resveratrol inhibits IL-1beta-induced stimulation of caspase-3 and cleavage of PARP in human articular chondrocytes in vitro. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1095:554 563

Sheweita, S. A., El-Hosseiny, L. S., & Nashashibi, M. A.. (2016). Protective Effects of Essential Oils as Natural Antioxidants against Hepatotoxicity Induced by Cyclophosphamide in Mice. *PLoS ONE*, 11(11), e0165667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165667>

Sid, M., Khelifi, E. (2021). L'importance des nutriments comme des antioxydants pour lutter contre le stress oxydatif. [Mémoire de master], Université Frères Mentouri Constantine1, Algérie, 110p.

## «T»

Tawaha K., Alali F. Q., Gharaibeh M., Mohammad M. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry* 104:1372–1378. Thèse de doctorat, université aboubaker belkaid, 136p.

Traber, M.G., and J.F. Stevens. (2011). Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic. Biol. Med.* 51:1000-1013.

Traber, M.G., and J.F. Stevens. (2011). Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic. Biol. Med.* 51:1000-1013

Tsai P. J., Tsai T. H., Ho S.C. 2007. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*, *Food Chemistry* 105: 311–316.

Tsao R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246. <https://doi.org/10.3390/nu2121231>.

## «U»

Ulbricht, C., Abrams, T. R., Brigham, A., Ceurvels, J., Clubb, J., Curtiss, W., Kirkwood, C. D., Giese, N., Hoehn, K., Iovin, R., Isaac, R., Rusie, E., Serrano, J. M., Varghese, M., Weissner, W., & Windsor, R. C. (2010). An evidence-based systematic review of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of dietary supplements*, 7(4), 351–413. <https://doi.org/10.3109/19390211.2010.525049>

## «V»

Verma, C. Science and Engineering of Polyphenols: Fundamentals and Industrial Scale Applications; Wiley Online Library: Hoboken, NJ, USA, 2024; ISBN 978-1-394-20390-1.

## «W»

Wu, J. Q., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013). Free radicals, antioxidant defense system, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 46, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.07.017>

## «Y»

Y. Neves, *Helv. Chim. Acta*, 31, 378-381 (1948)

## «Z»

Žegura B, Dobnik D, Niderl MH, Filipič M (2011) Antioxidant and antigenotoxic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in *Salmonella typhimurium* TA98 and HepG2 cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 32: 296-305.

Zuo RM, Jiao JY, Chen N, Jiang XL, Wu YL, Nan JX, Lian LH. Carnosic acid suppressed the formation of NETs in alcoholic hepatosteatosis based on P2X7R-NLRP3 axis. Phytomedicine. 2023 Feb ;110 :154599. Doi : 10.1016/j.phymed.2022.154599. Epub 2022 Dec 14. PubMed PMID: 36577209.

**Sites:**

- 1-[https://www.researchgate.net/figure/Desequilibre-de-la-balance-entre-oxydant-et-antioxydant-Stress-Oxydant\\_fig4\\_338902188](https://www.researchgate.net/figure/Desequilibre-de-la-balance-entre-oxydant-et-antioxydant-Stress-Oxydant_fig4_338902188).
- 2-<https://www.fruitomed.com/role-des-antioxydants/>.
- 3-<https://nutriandco.com/fr/pages/antioxydants>.
- 4-<https://www.terreexotique.fr/blog/clou-de-girofle-au-coeur-de-la-vie-de-village>.
- 5-<https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/arbre-girofle-18008/>.
- 6-<https://www.femmeactuelle.fr/sante/medecine-douce/les-6-vertus-sante-du-clou-de-girofle>  
2095505.
- 7-<https://leschroniquesduvegetal.wordpress.com/2023/04/03/le-giroflier-un-tresor-qui-vieillit-bien/>.
- 8-<https://www.vetofish.com/definition/eugenol>.
- 9- <https://www.barnalab.com/fr/principes-de-la-lyophilisation/>.

**Thème : Evaluation de l'activité antioxydante et l'effet immunomodulateur de l'extrait aqueux des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*.**

**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée**

**Résumé :**

L'impact du stress oxydatif et de la perturbation du système immunitaire est de plus en plus reconnu dans la genèse de nombreuses maladies. Ce problème a stimulé un intérêt accru pour l'étude des plantes médicinales contenant des molécules aux propriétés biologiques. Cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante et l'impact des plantes *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* sur la modulation du système immunitaire, afin de mieux comprendre leur potentiel thérapeutique.

Les extraits aqueux de ces plantes ont été préparés et soumis à différents tests in vitro et in vivo. Une analyse quantitative basée sur le dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes, et des tanins a révélé une richesse remarquable en composés bioactifs pour la plante *Syzygium aromaticum* dont les valeurs sont : polyphénols totaux ( $73.62 \pm 10.7$ ), les flavonoïdes ( $13.88 \pm 2.9$ ) et les tanins ( $0.017 \pm 0.001$ ) surpassant largement celle de *Rosmarinus officinalis* dont les valeurs sont : polyphénols totaux ( $71.8 \pm 12.6$ ), les flavonoïdes ( $8.42 \pm 0.9$ ) et les tanins ( $0.014 \pm 0.001$ ).

L'évaluation du potentiel antioxydant a été effectuée par deux méthodes in vitro : FRAP, DPPH. Les données obtenues soulignent le potentiel antioxydant important de la plante *Syzygium aromaticum* justifiant son intérêt dans la prévention des désordres liés au stress oxydatif. Cette activité est attribuée probablement à sa richesse en composés phénoliques.

In vivo, l'effet immunomodulateur de *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum* a été évalué à l'aide d'un modèle murin. Les extraits aqueux des deux plantes ont été administrés à des souris à deux doses distinctes (25 mg/kg et 50 mg/kg). L'évaluation portée sur l'activité phagocytaire,  $t_{1/2}$  et le poids des organes actifs suggère que le girofle possède un effet immunomodulateur plus puissant.

En conclusion, la plante médicinale *Syzygium aromaticum* semble plus efficace que *Rosmarinus officinalis* en raison de sa capacité antioxydante accrue et son rôle notable dans la régulation des réponses immunitaires et sa richesse en composés actifs, tout cela rend la plante prometteuse pour l'usage thérapeutique.

**Mots clés :** Stress oxydatif, Polyphénols totaux, Flavonoïdes, Tanins, Effet immunomodulateur, Antioxydante, *Rosmarinus officinalis*, *Syzygium aromaticum*, Composés actifs.

**Laboratoires de recherche :** laboratoire de génie microbiologique et application, Animalerie (U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Jury d'évaluation :**

**Président : Mr NECIB YOUSSEF (Pr- U Constantine 1 Frères Mentouri).**

**Encadrante : Mme BAHI AHLEM (MC-B- U Constantine 1 Frères Mentouri).**

**Examinateur : Mme DJEMAI ZOUGHLACHE SOUMIA (MA-A- U Constantine 1 Frères Mentouri)**