



République Algérienne Démocratiques Populaire Ministère de
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE SAAD DAHLEB

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Spécialité : pharmacotoxicologie

**Étude de l'effet pharmacologique des extraits d'*Allium sativum*
et *Rosmarinus officinalis* : vers l'élaboration d'un Produit
biopharmaceutique**

Présenté par : GUENIF AYA

METAOUI INES

Soutenue le 02/07/2025

Devant le jury :

Dr AYACHI.N

Docteur

Président

Dr MENACER.A

MAA

Examineur

Dr BOULESNAM S.L

Docteur

Encadrant

Dr AMOUKRANE. A

MCA

Co-promoteur

Année universitaire : 2024/2025

Remerciment

Nous remercions avant tout Dieu Tout-Puissant de nous avoir permis d'accomplir ce travail dans les meilleures conditions, en nous donnant la force, la patience et la persévérance nécessaires. Nous tenons à remercier chaleureusement les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce mémoire, ainsi que pour l'intérêt porté à notre travail. Leurs remarques et suggestions seront, sans nul doute, une source précieuse d'enrichissement pour la suite de notre parcours.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Dr Boulesnam S.L, notre promotrice, pour sa disponibilité, sa bienveillance, son encadrement rigoureux et ses conseils précieux tout au long de ce travail. Sa compétence scientifique et son accompagnement constant ont grandement contribué à l'aboutissement de ce mémoire.

Nos sincères remerciements vont également à Dr Amoukrane A., notre co- promotrice, pour sa précieuse implication, ses orientations méthodologiques et ses remarques constructives. Son regard attentif et ses suggestions avisées ont été essentiels à la bonne conduite de notre recherche.

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble du personnel du laboratoire, pour leur accueil, leur soutien technique et leurs conseils tout au long de notre travail expérimental. Nous tenons à remercier chaleureusement l'équipe pédagogique du Master 2 Pharmacotoxicologie de la faculté de biologie université de Saad Dhleb, pour la qualité de l'enseignement reçu et pour leur accompagnement tout au long de notre formation.

Nos pensées les plus sincères vont à nos familles respectives, pour leur soutien moral inconditionnel, leurs encouragements constants et leur présence rassurante tout au long de ce parcours.

Enfin, nous remercions nos camarades de promotion pour leur solidarité, leur esprit d'équipe et les moments partagés, qui ont enrichi cette expérience humaine



Dédicace

Je dédie ce mémoire à moi-même, pour la patience, la persévérance et la détermination dont j'ai fait preuve tout au long de ce parcours parfois semé d'embûches. Ce travail est le fruit de nombreuses heures de réflexion, d'efforts et de remise en question, et je suis fière d'avoir su aller jusqu'au bout.

À mes chers parents :

« À ma maman, la femme qui a toujours cru en moi avant même que je croie en moi-même. Ton amour et ton courage m'inspirent chaque jour à donner le meilleur de moi-même. »

« À mon cher papa, ton amour et ta présence m'ont guidée depuis le début de ma vie. Ce travail est une petite façon de te remercier pour tout ce que tu as sacrifié et tout ce que tu m'as appris. Tu es et resteras mon modèle. »

Je vous remercie du fond du cœur pour votre patience, votre confiance et votre générosité sans limites.

À mes sœurs, Fouzia et Amira, mes compagnes de vie et mes premières amies. Votre complicité, vos encouragements et vos sourires ont été d'un grand réconfort durant ces années d'études. Les rires partagés, les conversations profondes et votre soutien m'ont permis de surmonter chaque difficulté rencontrée.

À mon binôme et amie, pour ta confiance, ta gentillesse et ta capacité à rendre chaque instant de travail plus agréable. Merci pour ton amitié sincère et ton aide précieuse.

À mes chères amies Sara et Radia, pour votre présence réconfortante, votre écoute et vos encouragements. Merci pour les fous rires, le partage et le soutien durant tous ces moments de doute.

Merci d'avoir été là, avec vos mots bienveillants et votre énergie lumineuse dans ce long voyage.

Aux membres du jury, je vous remercie sincèrement d'avoir accepté d'évaluer ce mémoire. Votre temps, vos remarques et vos suggestions sont pour moi un honneur et une source d'enrichissement.

À toutes ces personnes, je dédie ce travail avec une profonde gratitude. Vous avez été les étoiles qui ont éclairé mon chemin, les forces invisibles qui m'ont portée jusqu'à ce jour.

AYA



Dédicace

Je dédie ce mémoire à moi-même, , pour chaque minute de travail acharné passé dans l'obscurité, chaque incertitude surmontée, chaque pulsation consacrée à ce projet. Je consacre ces pages comme une ode à la victoire, un hommage à mon courage silencieux, à mes pleurs cachés, à ma force que même moi j'ai parfois négligée. Ce mémoire témoigne fidèlement d'un parcours jalonné d'efforts, de résilience, de patience et de foi. Je rends hommage à moi-même avec tendresse, gratitude et une fierté sacrée pour avoir persévéré, osé et aimé ce chemin malgré tout.

À mes chers parents,
Mes origines ancrées, mes cieux gardiens, mes deux bienfaits sur cette planète.

Maman, ton amour est un sanctuaire précieux, une consolation silencieuse.

Tu es cette douceur sans borne, ce regard apaisant même sans paroles, ce vaste cœur où j'ai trouvé la force lorsque la mienne vacillait. Je te remercie pour tes prières discrètes dans l'obscurité de la nuit, pour ta croyance en moi, qui dépasse souvent la mienne, et pour ta présence, tendre et invariable, même dans mes moments de silence.

Papa, ton regard discret a été mon bouclier dans les tempêtes. Ton silence est une expression d'amour que seul le cœur peut saisir. Merci pour ton intégrité, ta sagesse, ton exemple discret mais fort. Tu m'as soutenue bien au-delà de ce que tu peux imaginer. Chaque mot de ce mémoire a été nourri par vos sacrifices invisibles, et vos prières ont apaisé mes peurs les plus profondes. Mon amour pour vous dépasse les mots, et ce travail est consacré à vous, avec toute ma sincérité. Vous êtes mon socle, ma protection et la source de ma gratitude infinie.

À mes précieuses sœurs, Ryma et Lina

mes doubles âmes, mes phares, mes fragments d'éternité. Partenaires de mes éclats de rire, de mes pleurs et de mes luttes. Je vous remercie d'avoir été présent, à chaque instant — dans le désordre tout comme dans la joie, dans mes moments de silence tout autant que dans mes élans. Votre amour est un dialecte que seul le cœur sait déchiffrer. Je vous remercie pour votre soutien, vos paroles tendres et cette présence discrète mais indispensable qui m'a tant aidé. Vous êtes mon soutien et ma famille, mes éclats de rire, mes havres de paix, mes constantes dans l'instabilité.

À mon binôme

, allié fidèle, je te remercie pour ta précision, ton sérieux et ton honnêteté. Ta sérénité face à la complexité, Ta persévérance durant les périodes difficiles, ainsi que ta présence indéfectible, ont constitué des ressources inestimables tout au long de cette expérience. Je vous remercie d'avoir partagé chaque étape avec respect, C'était un véritable plaisir de collaborer, et notre travail commun reflète bien notre coopération harmonieuse. Tu as été un soutien sincère, discret mais indispensable, et pour cela, ma gratitude envers toi est profonde.

À ma promotrice , Docteur SL. BOULESNAME

Je vous remercie pour votre confiance, votre soutien généreux et éclairé, vos jugements justes et votre bienveillance profonde mais discrète. Vous avez dirigé ce travail avec professionnalisme, rigueur et passion, et je vous en suis sincèrement reconnaissante. Votre exigence m'a appris à viser plus haut, votre rigueur a perfectionné ma méthode, et votre soutien discret a consolidé ma confiance en mes compétences. Merci pour l'inspiration que vous avez fournie et pour la qualité de votre soutien, qui ont laissé une empreinte significative sur ce mémoire.

À toutes les personnes rencontrées sur ce parcours, que ce soit dans l'ombre ou la lumière, à travers un mot, un sourire, une pensée ou un silence : merci du plus profond de mon cœur. Ce mémoire est le reflet de toutes vos actions d'amour. C'est un acte de confiance, de reconnaissance, de ténacité. Et je souhaite que chaque terme, chaque feuillet, contienne un peu de cette clarté que vous m'avez donnée.

LISTE DES ABREVIATIONS

A. sativum : *Allium sativum* (ail)

Ar-OH : Groupe phénolique aromatique (présent dans les flavonoïdes)

ATB : Antibiotique (abréviation utilisée pour désigner l'antibiotique de référence dans les tests comparatifs)

ATCC : American Type Culture Collection (organisme fournissant des souches microbiennes standardisées)

B. cereus* : *Bacillus cereus

B1 à B9, C, E, A : Vitamines hydrosolubles et liposolubles (ex. : B1 = thiamine, C = acide ascorbique)

BH1b : Brain Heart Infusion broth(bouillon cœur-cerveau, milieu de culture enrichi)

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DHT : Dihydrotestostérone (androgène responsable de l'alopécie androgénétique)

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (utilisé dans les tests d'antioxydants)

FIC : Fractional Inhibitory Concentration (Concentration Inhibitrice Fractionnaire)

FICI : Fractional Inhibitory Concentration Index (Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire)

GC-MS : Gas Chromatography–Mass Spectrometry (Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse)

γ -glutamylés : Peptides comportant un résidu glutamyl

HE : Huile essentielle

IL-1 β , TNF- α : Interleukine-1 bêta, Tumor Necrosis Factor alpha (cytokines pro-inflammatoires)

MGG : May-Grünwald-Giemsa (technique de coloration pour analyse cellulaire)

P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa

***R. officinalis* : Rosmarinus officinalis (romarin)**

R-CH(NH₂)-CH₂-S(O)-R' : Formule type des S-alk(en)ylcystéinesulfoxydes

R-S-R' : Groupe thioéther (liaison soufrée)

RCA : Rouge Congo Agar (milieu de culture pour la détection des biofilms)

S. aureus : Staphylococcus aureus

S9 : Fraction métabolique contenant des enzymes hépatiques (utilisée dans le test d'Ames)

SMILES:

- C : carbone (aliphatique, majuscule)
- c : carbone aromatique (minuscule)
- N : azote
- O : oxygène
- S : soufre
- P : phosphore
- F, Cl, Br, I : fluor, chlore, brome, iode

Les liaisons entre atomes sont indiquées par des symboles :

- - : liaison simple (souvent omise)
- = : liaison double
- # : liaison triple
- :: : liaison aromatique

Liste des Figures

N° Figure	Titre de la figure
Figure 1.1	Représentation d'un plant d' <i>Allium sativum</i> et description morphologique
Figure 1.2	Aspect morphologique de <i>Rosmarinus officinalis</i>
Figure 1.3	Anatomie du cheveu et cycle pileux : structure et phases de croissance
Figure 1.4	Action de la dihydrotestostérone sur le follicule pileux
Figure 1.5	Aspect moléculaire d'un follicule pileux sain et un atteint d'alopécie aréata
Figure 2.1	Matériel végétal (A : <i>Allium sativum</i> , B : <i>Rosmarinus officinalis</i>)
Figure 2.2	Schéma du procédé d'hydrodistillation pour l'extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>
Figure 2.3	Alambic d'hydrodistillation
Figure 2.4	Presse d'extraction froide
Figure 2.5	Démarche technique de recherche de méthode de diffusion par puits
Figure 2.6	Procédé technique de la coloration des lames traités
Figure 2.7	Approche technique appliqué de l'évaluation de l'activité anti inflammatoire
Figure 2.8	Approche technique pour l'étude de l'activité antioxydante
Figure 2.9	Procédure technique de la méthode de coloration May-Grünwald-Giemsa
Figure 2.10	Approche technique du teste d'ames
Figure 3.1	Les composés majeurs dans l'huile essentielle de romarin
Figure 3.2	Résultat de l'activité antibactérienne des extraits végétaux de <i>rosmarinus officinalis</i> du macérat d' <i>Allium sativum</i>
Figure 3.3	Résultats de teste Rouge Congo
Figure 3.4	Les résultats du potentielle de formation des biofilms microbien
Figure 3.5	Résultats microscopique de coloration de gram
Figure 3.6	Effect de l'extrait et l'indométhacine sur l'inhibition de la dénaturation des protéines
Figure 3.7	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des extraits , DPPH et acide ascorbique
Figure 3.8	Courbe représente le taux d'inhibition 1% en fonction de la concentration des extraits et vitamine c
Figure 3.9	Observation microscopique de frottie sanguin par de May-Grünwald-Giemsa
Figure 3.10	Les résultats du teste d'ames
Figure 3.11	Diagramme Bioavailability Radar (WLOGP vs TPSA)
Figure 3.12	Cibles moléculaires des molécules bioactives extraite d' <i>Allum sativum</i> par swiss target predection
Figure 3.13	Cibles moléculaires des molécules bioactives d' <i>Rosmarinus officinalis</i> extraite par : SwissTargetPrediction

Liste des Tableaux

N° Tableau	Titre du tableau
Tableau 1.1	Classification de <i>Allium sativum L</i>
Tableau 1.2	Profil phytochimique de l'ail
Tableau 1.3	Classification de <i>Rosmarinus officinalis</i>
Tableau 1.4	Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i>
Tableau 2. 1	Microorganismes testés
Tableau 2.2	Étapes du test au Rouge Congo
Tableau 2.3	Molécules bioactives identifiées dans d'Allium sativum et <i>Rosmarinus officinalis</i>
Tableau 3.1	Caractéristiques organoleptiques des extraits végétaux de <i>Rosmarinus officinalis</i> et du macérât d' <i>Allium sativum</i>
Tableau 3.2	Composés majeurs et leurs proportions dans l'huile essentielle de romarin
Tableau 3.3	Zones d'inhibition (en millimètres) des extraits végétaux de <i>Rosmarinus officinalis</i> et du macérât d' <i>Allium sativum</i> sur différents microorganismes
Tableau 3.4	Indice de concentration inhibitrice fractionnée (FICI) des combinaisons d'extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Allium sativum</i>
Tableau 3.5	Évaluation qualitative de la capacité de formation de biofilm par <i>Staphylococcus aureus</i> et un consortium poly microbien
Tableau 3.6	Résultat de l'activité anti- inflammatoire , Résultats Effet de l'extrait et l'indométhacine sur l'inhibition de la dénaturation des protéines
Tableau 3.7	Molécules bioactives issues des huiles essentielles de d' <i>Allium sativum Rosmarinus officinalis</i> codées en format smiles

Résumé

Allium sativum (ail) et *Rosmarinus officinalis* (romarin) occupent une place prépondérante dans la pharmacopée traditionnelle, en raison de leurs propriétés pharmacologiques diversifiées et de leur efficacité reconnue. L'objectif de cette étude est d'examiner l'impact pharmacologique des deux extraits en vue de la conception d'un produit biopharmaceutique naturel. Ces deux plantes, réputées pour leurs propriétés médicinales, ont fait l'objet de diverses activités physico-chimiques, microbiologiques et bioactives. L'huile essentielle de romarin a été obtenue par le biais de l'hydrodistillation, alors que l'ail a subi un traitement de macération dans une huile de sésame. Les analyses des échantillons recueillis ont par la suite été effectuées grâce à la chromatographie en phase gazeuse associée à la spectrométrie de masse (GC-MS), dans le but d'identifier les composés bioactifs prédominants.

Les activités biologiques examinées comprennent : l'action antimicrobienne vis-à-vis de diverses souches de bactéries et de champignons, l'efficacité contre les biofilms, L'activité antioxydante est mesurée par le test DPPH, , une activité anti- inflammatoire par L'inhibition de la dénaturation des protéines. L'impact anti-apoptotique et anti-nécrotique sur des cellules sanguines humaines, et une évaluation de la mutagénicité via le test d'Ames. Les résultats ont révélé une activité synergique notable, notamment sur la population microbienne et la neutralisation des radicaux libres et la diminution du processus inflammatoire

L'interaction entre les molécules actives et sur les cibles biologiques montre une affinité bien distinguée . Cette recherche offre un fondement scientifique robuste pour la conception d'un produit biopharmaceutique naturel, multifonctionnel

Mots clés : *Allium sativum* ; *Rosmarinus officinalis* ; activité antimicrobienne ; biofilm ; activité antioxydante ; activité anti-inflammatoire ; test d'Ames ; GC-MS ; synergie ; produit biopharmaceutique naturel.

ملخص

مكانة بارزة في دستور الأدوية التقليدي، نظرًا لخصائصهما الدوائية المتنوعة وفعالتهما المعترف بها. تهدف هذه الدراسة إلى دراسة (Rosmarinus officinalis) وإكليل الجبل (Allium sativum) يحتل الثوم التأثير الدوائي للمستخلصين بهدف تصميم منتج صيدلاني حيوي طبيعي. خضع هذان النباتان، المعروفان بخصائصهما الطبية، لأنشطة فيزيائية وكيميائية وميكروبيولوجية وحيوية متنوعة. تم الحصول على زيت إكليل لتحديد المركبات النشطة بيولوجيًا السائدة. (GC-MS) الجبل العطري بالتقطير المائي، بينما خضع الثوم للنقع في زيت السمسم. ثم أجريت تحاليل للعينات المجمعة باستخدام كروماتوغرافيا الغاز-كروماتوغرافيا الكتلة ونشاط مضاد للالتهابات عن DPPH، تشمل الأنشطة البيولوجية المدروسة: نشاط مضاد للميكروبات ضد سلالات مختلفة من البكتيريا والفطريات، وفعالية ضد الأعشبة الحويية، ونشاط مضاد للأكسدة قُيِّمَ باختبار كشفت النتائج عن نشاط تآزري ملحوظ، لا سيما على الميكروبات، Ames. طريق تثبيط تحلل البروتين، وتأثيرات مضادة للموت الخلوي المبرمج والنخر على خلايا الدم البشرية، وتقييم الطفرات باستخدام اختبار وتحييد الجنور الحرة، والحد من العملية الالتهابية.

يُظهر التفاعل بين الجزينات الفعالة والأهداف البيولوجية تقاربًا واضحًا. يوفر هذا البحث أساسًا علميًا مثيرًا لتصميم منتج صيدلاني حيوي طبيعي متعدد الوظائف.

؛ تآزر؛ منتج صيدلاني GC-MS؛ Ames؛ نشاط مضاد للميكروبات؛ أعشبة حيوية؛ نشاط مضاد للأكسدة؛ نشاط مضاد للالتهابات؛ اختبار Rosmarinus officinalis؛ Allium sativum؛ الكلمات المفتاحية: حيوي طبيعي.

Abstract

Allium sativum (garlic) and *Rosmarinus officinalis* (rosemary) occupy a prominent place in traditional pharmacopoeia, due to their diverse pharmacological properties and recognized efficacy. The objective of this study is to examine the pharmacological impact of the two extracts with a view to designing a natural biopharmaceutical product. These two plants, renowned for their medicinal properties, have undergone various physicochemical, microbiological, and bioactive activities. Rosemary essential oil was obtained through hydrodistillation, while garlic underwent maceration in sesame oil. Analyses of the collected samples were subsequently carried out using gas chromatography-mass chromatography (GC-MS) to identify the predominant bioactive compounds. The biological activities examined include: antimicrobial activity against various strains of bacteria and fungi, efficacy against biofilms, antioxidant activity measured by the DPPH assay, anti-inflammatory activity by inhibition of protein denaturation, anti-apoptotic and anti-necrotic effects on human blood cells, and mutagenicity assessment using the Ames assay. The results revealed significant synergistic activity, particularly on the microbial population and the neutralization of free radicals and the reduction of the inflammatory process.

The interaction between the active molecules and the biological targets shows a clearly distinguished affinity. This research provides a robust scientific basis for the design of a multifunctional natural biopharmaceutical product.

Keywords: *Allium sativum*; *Rosmarinus officinalis*; antimicrobial activity; biofilm; antioxidant activity; anti-inflammatory activity; Ames assay; GC-MS; synergy; natural biopharmaceutical product.

Table des matières

Remerciement.....	2
Dédicaces.....	3
Liste des abréviations.....	5
Liste des Figuers.....	6
Liste des tableaux.....	8
Résumé.....	9
Résumé en arabe.....	10
Abstract.....	11
Introduction Générale.....	14
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1. <i>Allium sativum</i> L.....	11
1.1 Classification botanique.....	11
1.2 Caractéristiques morphologiques.....	12
1.3 Composition chimique.....	13
1.4 Activités biologiques.....	14
2. <i>Rosmarinus officinalis</i>	15
2.1 Morphologie et classification.....	15
2.2 Composition chimique.....	16
2.3 Activités biologiques.....	17
3. Physiopathologie capillaire.....	18
Chapitre II : Matériels et Méthodes	
1. Préparation des échantillons végétaux.....	20
1.1 Matériel végétal.....	20
1.2 Extraction de l'huile essentielle de romarin.....	21
1.3 Macération d' <i>Allium sativum</i>	22

1.4 Détermination des rendements.....	23
2. Caractérisation physico-chimique.....	24
2.1 Analyses organoleptiques.....	24
2.2 Analyse GC-MS.....	25
3. Activités biologiques.....	26
3.1 Activité antimicrobienne.....	26
3.2 Inhibition des biofilms.....	27
3.3 Activité anti-inflammatoire.....	28
3.4 Activité antioxydante.....	29
3.5 Activité anti-apoptotique et anti-nécrotique.....	30
3.6 Activité mutagène (test d'Ames).....	31
4. Analyse in silico des composés actifs.....	32

Chapitre III : Résultats et Discussions

1. Rendements d'extraction.....	34
2. Caractérisation des extraits.....	35
3. Activités biologiques.....	36
3.1 Résultats antibactériens et antifongiques.....	36
3.2 Effet anti-biofilm.....	37
3.3 Activité anti-inflammatoire.....	38
3.4 Activité antioxydante.....	39
3.5 Observation cellulaire (MGG).....	40
3.6 Résultats du test d'Ames.....	41
3.7 Résultats in silico.....	42
Conclusion Générale.....	43
Références bibliographique.....	44
Annexes.....	45

Introduction

L'intérêt mondial croissant pour les produits thérapeutiques d'origine végétale reflète une volonté de développer des alternatives plus sûres, durables et efficaces face aux traitements allopathiques conventionnels. Cette évolution est motivée par les effets indésirables fréquents des médicaments synthétiques ainsi que par la menace croissante de la résistance antimicrobienne, classée parmi les priorités sanitaires majeures par l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2022). Dans ce contexte, les plantes médicinales apparaissent comme des sources stratégiques de biomolécules multifonctionnelles, capables d'intervenir simultanément sur plusieurs mécanismes physiopathologiques, notamment l'inflammation chronique, le stress oxydatif et l'infection microbienne (Newman et Cragg, 2020 ; Harvey *et al.*, 2015).

Parmi les espèces d'intérêt, *Allium sativum* (ail) et *Rosmarinus officinalis* (romarin) se distinguent par une riche tradition d'usage thérapeutique et une forte valeur pharmacologique, reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, immunomodulatrices et cardioprotectrices (Bayan *et al.*, 2014 ; Shang *et al.*, 2019). Plusieurs études ont également souligné le potentiel synergique de ces composés lorsqu'ils sont utilisés en combinaison, renforçant ainsi l'efficacité globale des extraits végétaux (Viuda-Martos *et al.*, 2010).

La présente étude s'inscrit dans une approche biopharmaceutique intégrée, visant à explorer les effets pharmacologiques conjoints de *A. sativum* et *R. officinalis*, à travers une évaluation combinée de leurs activités biologiques : antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique, anti-apoptotique et cytoprotectrice. S'inscrivant dans une approche biopharmaceutique intégrative, la présente étude vise à caractériser les propriétés pharmacologiques de ces deux espèces végétales, évaluées séparément et en association synergique. La présente étude a pour objectif d'évaluer les propriétés pharmacologiques de deux espèces végétales, *Allium sativum* et *Rosmarinus officinalis*, examinées individuellement et en combinaison synergique, dans le cadre du développement d'une approche thérapeutique alternative contre l'alopécie.

L'étude repose sur une série d'analyses expérimentales *in vitro* : extraction ciblée des composés bioactifs (hydrodistillation pour le romarin, macération dans l'huile de sésame pour l'ail), caractérisation chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), test DPPH pour l'évaluation du pouvoir antioxydant, analyse de l'activité antibactérienne (diffusion sur gélose, inhibition de biofilms), test d'Ames pour la mutagénicité, et examen morphologique par microscopie.

En complément, une approche *in silico* a été intégrée afin d'explorer le profil pharmacocinétique des principales molécules identifiées (ADME-Tox) ainsi que leur affinité de liaison avec des cibles biologiques clés impliquées dans l'inflammation, le stress oxydatif et les mécanismes bactériens.

Chapitre I :SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Phytothérapies et physiopathologie capillaire

I.1.1. Espèces végétales

I.1.1.1. *Allium sativum* L :

L'Ail (*Allium sativum* L.) Anglais :Garlic et en Arabe : ثوم est une espèce appartenant à la famille des *Amaryllidaceae*, cultivée des régions subtropicales aux régions boréales. Son principal centre d'origine se situe en Asie centrale, s'étend au Moyen-Orient et atteint le bassin méditerranéen (Licea-Moreno et al., 2024).

IL se classe en deuxième position parmi les espèces les plus consommées, depuis l'antiquité, l'ail est une herbe aromatique largement reconnue surtout utilisé en cuisine pour sa saveur piquante, mais il reste également apprécié pour ses multiples vertus pharmacologiques et thérapeutiques (Najja et al., 2011).

- **Classification botanique :**

Le tableau 1.1 présente la classification de *A. sativum* L

Tableau 1.1: Classification de *A. sativum* L

Règne	Plantae
Sous-Règne	<i>Tracheobionta</i> (= Végétaux vasculaires)
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (= Spermaphytes)
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i> (= Angiospermes)
Classe	<i>Liliopsida</i> (= Monocotylédones)
Sous-classe	<i>Liliidae</i>
Ordre	<i>Asparagales</i>
Famille	<i>Amaryllidaceae</i>
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium sativum</i> L.

(Chase et al., 2016)

- **Caractéristiques morphologiques :**

C'est une plante herbacée aromatique et bulbeuse, est à la fois annuelle et vivace, avec une hauteur pouvant atteindre jusqu'à 90 cm (Bechaa, 2020). elle est constituée de 10 à 50 petites

bulbilles ou gousses qui présentent une asymétrie bilatérale, sauf pour celles qui sont proches du centre (figure 1.1) (Singh et Singh, 2019).

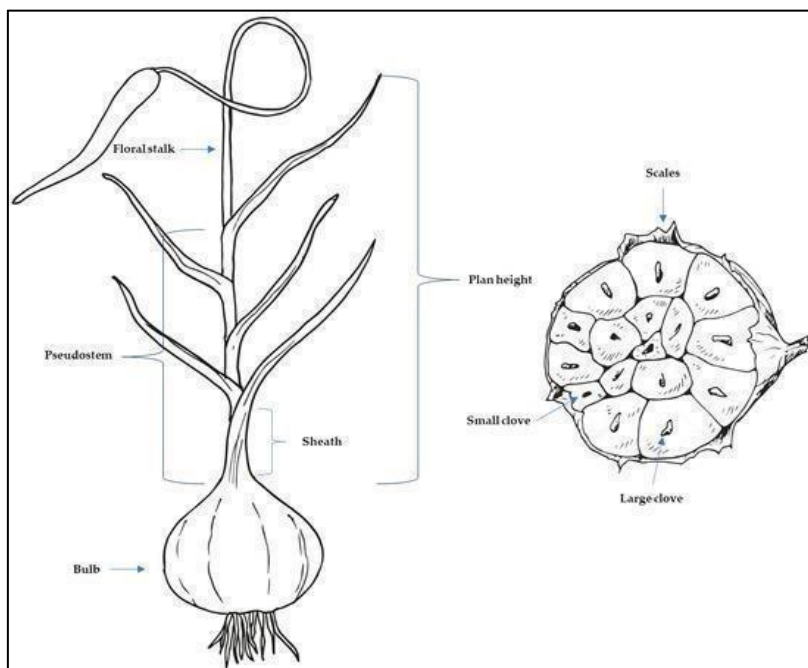


Figure 1.1 : Représentation d'un plant d'*Allium sativum*, description morphologique (Licea-Moreno et al., 2024).

De grandes variations morphologiques, phénologiques, biochimiques et physiologiques, ainsi que pour la tolérance aux stress biotiques dont la cause principale de cette hétérogénéité n'est pas claire, mais il a été suggéré que l'accumulation de changements provenant de mutations naturelles, de croisements entre ancêtres anciens et d'événements épigénétiques pourrait contribuer à cette variabilité inattendue (Licea-Moreno et al., 2024).

• Composition chimique :

La variabilité de la composition chimique de l'ail est influencée par le cultivar, le site de culture, le moment de la récolte et les conditions dans lesquelles les bulbes sont entreposés (Bruneton, 2009).

Le tableau 1.2 présente les principaux composants phytochimiques de l'ail :

Tableau 1.2 : Profil phytochimique de l'Ail

Catégorie	Composition / Détail clé	Structure chimique (exemples ou classes)	Références
1. Composés soufrés	Allicine, DAS, DADS, DATS, SAC, SAMC, ajoène (33 composés).	R-S-R' (thioéthers, disulfures, trisulfures), sulfoxydes (S=O), allyl group (CH ₂ =CH-CH ₂ -)	Shang et al., 2019 ; Alam, 2016
2. Glucides	28 % : fructose, glucose, saccharose, fructanes, raffinose, inuline.	Hexoses (C ₆ H ₁₂ O ₆), disaccharides (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁), polysaccharides (fructanes : polymères de fructose)	Colin, 2016 ; Gambogou et al., 2019
3. Protéines & Acides Aminés	6 % de protéines. 17 acides aminés (aspartique, lysine, méthionine, etc.).	Peptides (liaisons peptidiques - CO- NH-), acides aminés (groupe amine NH ₂ et acide carboxylique COOH)	Trudel, 2005 ; Hasib et al., 2021
4. Lipides	Faible quantité. Contient acides gras (linoléique, oléique), phospholipides, prostaglandines.	Acides gras insaturés (ex : C18:2, C18:1), triglycérides (esters de glycérol), phospholipides (tête polaire + queue lipidique)	Gambogou et al., 2019
5. Fibres alimentaires	1,5 % : pectine, cellulose, hémicellulose.	Polymères de glucose ou galacturonique (liaisons β-1,4 dans cellulose)	Mohamed, 2018 ; Colin, 2016
6. Minéraux & Oligo-éléments	Phosphore, potassium, zinc, sélénium (organique : diméthylsélénure, etc.).	Ions métalliques (Zn ²⁺ , Fe ²⁺), composés organosélénés (R-Se-R')	Gambogou et al., 2019
7. Vitamines	B1 à B9, C, E, A.	Hétérocycles (B1 : thiazole/pyrimidine), acides (B3 : acide nicotinique), antioxydants (C : acide ascorbique, E : tocophérol)	Seninger, 2009
8. Eau	65 % de la masse de l'ail est constituée d'eau.	H ₂ O (molécule simple, polaire).	Bourgoin et al., 2017
9. Ajoènes	Dérivés de l'allicine : ajoène E et Z. Volatiles. Z-ajoène moins stable.	4,5,9-Trithiadodéca-1,6,11-triène-9-oxide (R-S-S=O-S-R')	Sendl, 1995 ; Naznin, 2008 ; Colin, 2016
10. Peptides γ-glutamylés	Dérivés du glutathion (ex : SAC, SAMC).	Dipeptides avec résidus glutamyl + soufre (-CH ₂ -S-)	Santhosha, 2013 ; Tsai et al., 2012
11. S-alk(en)ylcystéinesulfoxydes	Alliin, isoalliline, méthiine.	Cystéine modifiée : R-CH(NH ₂)-CH ₂ -S(O)-R'	Colin, 2016 ; Batiha et al., 2020
12. Thiosulfinate / Allicine	Allicine (70-80 % des thiosulfates), instable, se transforme rapidement.	R-S(O)-S-R' (thiosulfates), dérivés allyliques	Papu, 2014 ; Batiha et al., 2020
13. Composés phénoliques	>20 : résorcinol, pyrogallol, acide gallique, protocatéchuïque, quercétine, rutine, apigénine, myricétine.	Noyaux aromatiques (benzène) hydroxylés : Ar-OH ; flavonoïdes (structure C6-C3-C6)	Shanget al., 2019
14. Saponines	Saponines stéroïdiennes (proto-eruboside-B, eruboside-B, voghioside D1). Ail violet plus riche que l'ail blanc.	Stéroïdes glycosylés : noyau stérol (cyclopentanoperhydrophénanthrène) + sucre (glucose, rhamnose, etc.)	Colin, 2016 ; Shang et al., 2019

• Activités biologiques

L'Allium sativum possède de nombreuses activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et antidiabétiques. Ses composés actifs, comme l'allicine, contribuent à la protection contre le stress oxydatif, les infections microbiennes et les troubles métaboliques (Kumar *et al.*, 2023 ; Zhang *et al.*, 2024). L'ail agit également sur la circulation sanguine en réduisant l'agrégation plaquettaire et en abaissant la pression artérielle (Singh et Gupta, 2022). Ces effets font de l'ail une plante médicinale aux multiples bienfaits (Ahmed *et al.*, 2023 ; Lee et Park, 2024).

I.1.1.2. *Rosmarins officinalis*

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*), connu en arabe sous le nom إكليل الجبل (Iklil Al Jabal) et en anglais sous le nom rosemary, est un arbuste aromatique emblématique du bassin méditerranéen appartenant à la famille des *Lamiacées*. Il se distingue par ses feuilles persistantes, étroites et vert foncé, ainsi que par ses petites fleurs bleu pâle à violettes (figure 1.2) (Makhloufi, 2009 ; Berkane, 2015).

Selon Mostefaï (2012), le romarin est une plante vivace présentant une morphologie bien adaptée à son environnement méditerranéen (Figure 1.2):

- **Racine** : Profonde et pivotante, elle permet à la plante de résister à la sécheresse en accédant à des nappes phréatiques profondes.
- **Tige** : Il s'agit d'un arbuste ou sous-arbrisseau aux rameaux atteignant 0,5 à 2 mètres de hauteur. Sa tige est tortueuse, anguleuse, et relativement fragile. L'écorce linéaire porte des inflorescences en cymes axillaires, parfois ressemblant à de petits épis.
- **Feuilles** : Les feuilles sont linéaires, gaufrées, coriaces, sessiles et opposées. Elles présentent une texture rigide, une face supérieure vert brillant et des bords révoltés, tandis que la face inférieure est blanchâtre et plus ou moins hispide. Leur taille varie entre 18 à 50 mm de long et 1,5 à 3 mm de large.



Figure 1.2 : Aspect morphologique de *Rosmarinus officinalis*
Hodnett., 2022.

- **Classification botanique :**

Le tableau 1.3 présente la classification de *Rosmarinus officinalis*

Tableau 1.3: classification de *Rosmarinu sofficialis*

Règne	Plantae
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia rosmarinus</i> Spenn. (≡ <i>Rosmarinus officinalis</i> L.)

(Chase, M. W. *et al.* 2016)

- **Composition chimique du Romarin**

Le Romarin est principalement connu pour sa richesse en composés bioactifs, incluant des huiles essentielles, des acides phénoliques, des flavonoïdes, des tanins et des saponines.

Tableau 1.4 : Tableau synthétique de la composition chimique du *Rosmarinus officinalis*

Catégorie	Composés	Teneur / Formule	Propriétés principales
Huiles essentielles	1,8-cinéole (cinéole)	C ₁₀ H ₁₈ O — 154,25 g/mol	Antiseptique, expectorant
	Camphre	C ₁₀ H ₁₆ O — 152,23 g/mol	Circulatoire, antidouleur
	Alpha-pinène	C ₁₀ H ₁₆ — 136,23 g/mol	Antibactérien, anti-inflammatoire
	Bornéol	C ₁₀ H ₁₈ O — 154,25 g/mol	Calmante, antiseptique
	Verbénone	C ₁₀ H ₁₄ O — 150,22 g/mol	Régénération des tissus
Acides phénoliques	Acide rosmarinique	C ₁₈ H ₁₆ O ₈ — 360,31 g/mol	Antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobien
	Acide carnosique&carnosol	C ₂₀ H ₂₆ O ₄ — 330,42 g/mol	Antioxydant, anti-inflammatoire, potentiel anticancer
	Acide caféique	C ₉ H ₈ O ₄ — 180,16 g/mol	Antioxydant, antibactérien, antifongique
Flavonoïdes	Diosmétine, Lutéoline, Apigénine	—	Antioxydants, protecteurs cardiovasculaires, anti-radicaux libres
Tanins	—	—	Astringents, antimicrobiens
Saponines	—	—	Immunostimulantes, expectorantes

(Dupont Martin 2024).

• Activité biologique

Le *Rosmarinus officinalis* est une plante médicinale riche en composés bioactifs naturels aux nombreuses propriétés pharmacologiques. Elle présente des activités antibactériennes, notamment contre certaines bactéries Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, bien que son efficacité soit plus limitée contre les bactéries Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*. Son huile essentielle démontre également une activité antifongique significative en inhibant la croissance et la sporulation de divers champignons pathogènes responsables de mycoses humaines. En outre, les composés phénoliques et diterpéniques du romarin, tels que l'acide carnosique et le carnosol, exercent des effets antitumoraux en bloquant le cycle cellulaire, en induisant l'apoptose et en inhibant la formation et la propagation des tumeurs (Ouraini *et al.*, 2005 ; Mahdi, 2015 ; Mouas *et al.*, 2017 ; Andrade *et al.*, 2018 ; Petiwala et Johnson, 2015)

I.1.2. Physiopathologie capillaire

Le follicule capillaire se divise en deux parties : la racine (ou bulbe pileux), vivante, située à environ 4 mm sous le cuir chevelu, et la tige pileuse, partie visible et biologiquement morte (figure 1.3).

- La papille dermique
- La matrice, où les kératinocytes produisent la kératine, et les mélanocytes la mélanine
- La gaine épithéliale, interne et externe, quiguide la formation de la tige ;
- La glande sébacée, qui sécrète le sébum essentiel à la protection et à la brillance des cheveux (Schneider, Schmidt-Ullrich et Paus, 2009).

La tige pileuse est formée de cellules mortes kératinisées et se compose de trois couches :

- La moelle, au centre, faite de cellules sans noyau ;
- Le cortex, qui constitue la majeure partie du cheveu et assure sa résistance, sa souplesse et sa couleur grâce à la kératine et à la mélanine ;
- La cuticule, couche externe protectrice formée d'écailles kératinisées, essentielle à l'état et à l'aspect du cheveu (Montagna et Parakkal, 1974).

Le cycle pileux comprend trois phases principales : une phase de croissance (anagène), une phase de régression (catagène) et une phase de repos (télogène) (figure 1.3) (Paus, et Cotsarelis, G. 1999)

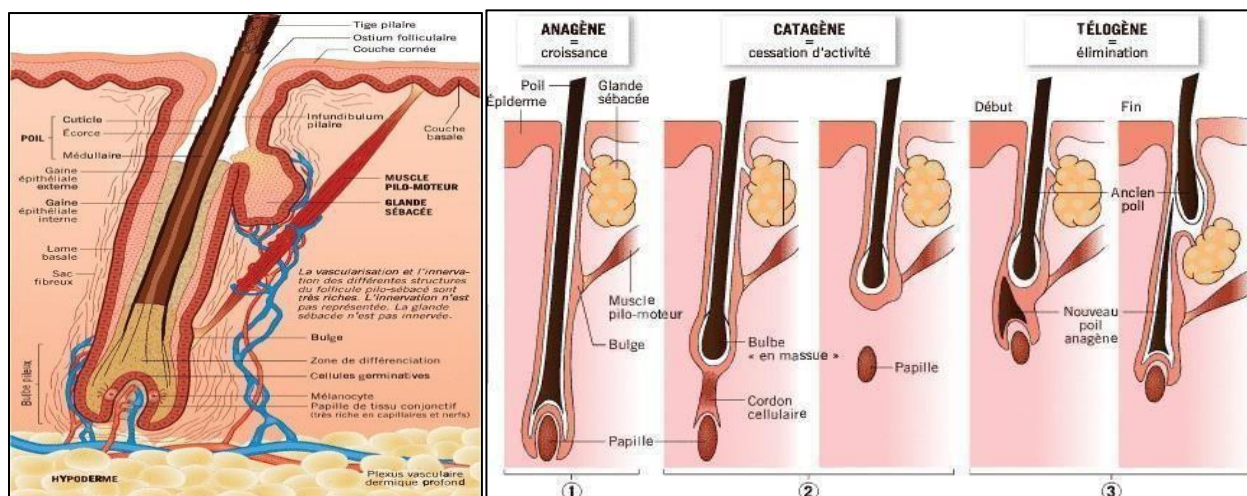


Figure 1.3 : Anatomie du cheveu et cycle pileux : structure et phases de croissance (Centre de Médecine Esthétique du Dr Costa.,2015)

L'alopécie désigne une chute de cheveux excessive, dépassant la perte quotidienne normale de 50 à 100 cheveux. Elle peut avoir diverses origines : hormonales, auto-immunes, héréditaires, ou liées au stress physique ou psychologique.

- **Alopécie androgénétique**

C'est la forme la plus courante, touchant hommes et femmes, elle est liée à l'action de la dihydrotestostérone (DHT), un androgène qui agit sur les follicules pileux (**figure 1.4**)

(Clinique de Verdun, s.d. ; Costa, N., s.d.2024) (Randall 2008).



Figure 1.4 : Action de la dihydrotestostérone sur le follicule pileux.
(FrMedBook., 2025)

Elle se divise en deux grandes catégories : celles où les follicules pileux sont intacts mais le cycle de croissance est perturbé (ex. : effluvium télogène), et celles où les follicules sont endommagés (ex. : alopécie cicatricielle).

- **Alopécie areata:**

C'est une maladie auto-immune caractérisée par une perte de cheveux en plaques bien délimitées, non cicatricielles et asymptomatiques. Elle touche environ 2 % de la population, sans distinction de sexe, et apparaît plus fréquemment chez les enfants et les jeunes adultes (Smith *et al.*, 2015).

La pathologie résulte d'une attaque des follicules pileux par les lymphocytes T, conduisant à une inflammation locale qui interrompt le cycle pileux normal (figure 1.5), en particulier en provoquant un passage prématuré à la phase télogène. Cette infiltration immunitaire s'accompagne d'une expression anormale des molécules du CMH et d'une production accrue de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF- α)(Williams *et al.*, 2017).

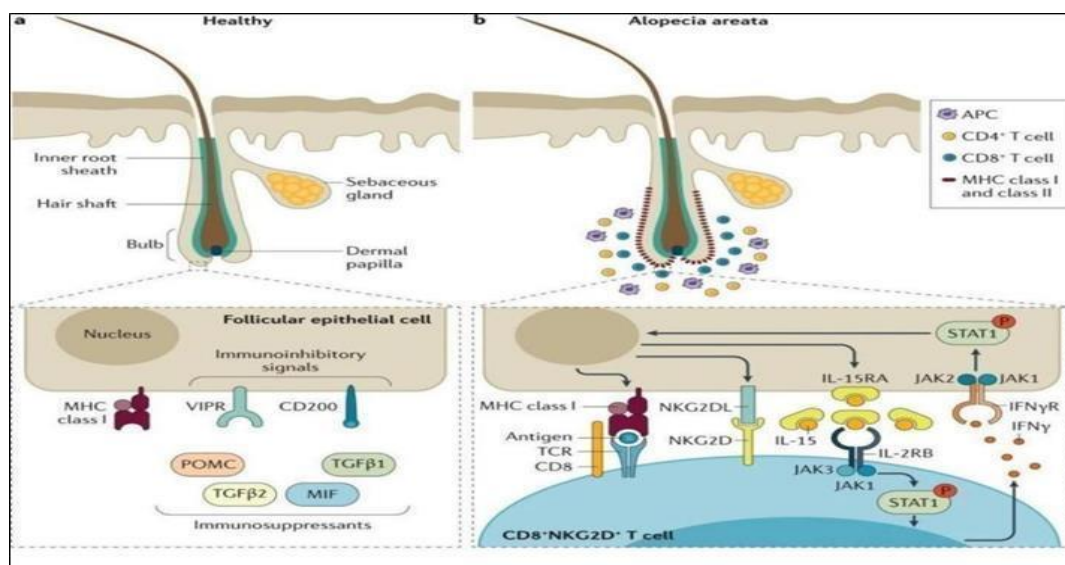


Figure 1.5 : Aspect moléculaire d'un follicule pileux sain et un atteint d'alopecie areata (Trueb, R. M. (2017).

Chapitre II: Matériels et Méthodes

Notre recherche s'inscrit dans l'optique de l'exploitation des vertus des extraits d'*Allium sativum* et de *Rosmarinus officinalis*, en vue du développement d'un produit biopharmaceutique.

L'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est réalisée au niveau du Laboratoire de BIO.EXTRAPAMAL, Oued Alleug Blida

La caractérisation des propriétés physico-chimique et biologiques a été effectuée dans les laboratoires suivants :

- Centre de Recherche et technique en Analyse Physico-chimique (CRAPC), Tipaza.
- Laboratoire de Biotechnologie-Environnement et Sante
- Laboratoire de Projet fin d'étude (PFE) faculté des sciences de la nature et la vie (SNV), Blida.
- Laboratoire d'analyses médicales du service Hématologie, CHU FRANZ FANON, BLIDA.

II.1. Préparation des échantillons végétaux

II.1.1. Matériel végétale

Des échantillons aléatoires des feuilles fraîches de *Rosmarinus officinalis* et des bulbes d'*Allium sativum* ont été cueillies durant le mois de février 2025 à blida . Une fois récoltées, les feuilles de romarin ont été nettoyées avec soin et laissées à sécher naturellement dans un endroit à l'ombre et bien aéré, tandis que les bulbes d'ail rouge ont été pelés et découpés en morceaux dans le but de préparer un Macérât.



(A)

(B)

Figure 2.1.: Matériel végétale

(A : *Allium sativum*) et (B : *Rosmarinus officinalis*) (photo original le 26 février)

II.1.2. Extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par d'hydrodistillation, selon Bakkali et al 2008 (Figure 2 .2) en introduisant 10 kg de plante fraîche dans un alambic. À celui-ci, un volume total de 78 litres d'eau (58 litres initiaux plus 20 litres ajoutés) a été incorporé. Le chauffage du mélange à l'aide d'une chaudière a permis la libération de vapeur, laquelle entraîne les composés volatils présents dans la matière végétale. Cette vapeur est ensuite dirigée vers un condenseur alimenté en eau froide, où elle se liquéfie pour permettre la récupération des extraits aromatiques (Figure 2.3), cette opération dure de 3h à 4h pour extraire de toute l'HE, ces HEs sont récupérées directement dans un Eppendorf, après la lecture de rendement, les huiles essentielles obtenues sont mises dans des flacons opaques et conservées à la réfrigération à +4C° jusqu'à leur utilisation pour les tests biologiques

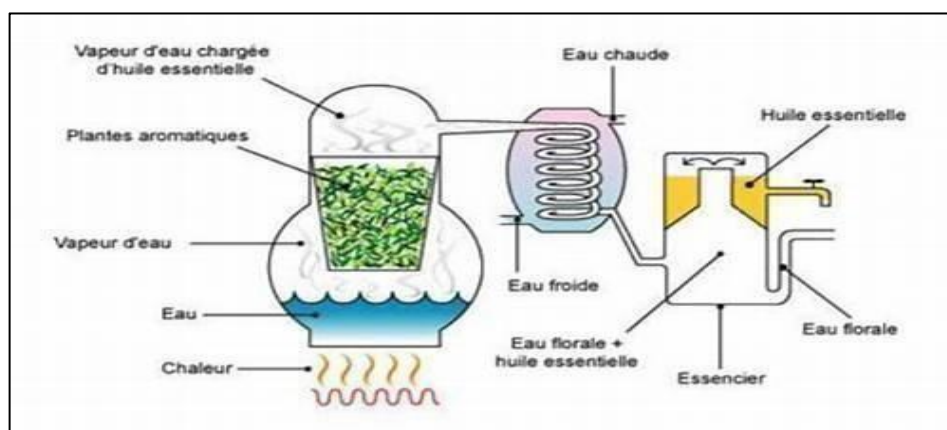


Figure 2.2 : Schéma du procédé d'hydrodistillation pour l'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, (Bakkali et al. 2008).



Figure 2.3 : Alambic d'hydrodistillation (photo original février).

II.1.3. Macération d'*Allium sativum*

En premier lieu on commence par l'extraction de l'huile de sésame par pression à froid . (Moayedi et *al.*, 2018).. L'huile obtenue est laissée en décantation durant 24 à 48 heures puis elle est filtrée à l'aide d'un papier ou tissu filtre, assurant ainsi une huile limpide et stable (Elleuch et al., 2007) (Figure 2.4)

L'huile ainsi extraite est ensuite utilisée comme support lipophile dans la préparation du macérat d'ail (*Allium sativum*). Après avoir été épluchées et écrasées, les gousses d'ail sont mélangées à l'huile de sésame selon un ratio de 1:10 (1 g d'ail pour 10 mL d'huile) (Benkeblia, 2004). Le mélange est ensuite soumis à une macération à chaud dans un bain-marie maintenu entre 40 et 50 °C pendant 2 à 3 heures, en veillant à ne pas dépasser 60 °C afin de préserver les composés thermosensibles (Lawson & Hughes, 1992). Enfin, le macérat est filtré à l'aide d'un papier filtre ou de gaze stérile, puis conservé dans un flacon en verre ambré, à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 4 et 10 °C pour garantir sa stabilité (Benkeblia, 2004). Cette macération permet l'extraction des composés liposolubles de l'ail, notamment l'allicine et les dérivés soufrés tels que les sulfures d'allyle, reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (Reuter et al., 1996). De plus, la maîtrise des conditions de température et de lumière durant la préparation et la conservation contribue à limiter la dégradation oxydative des composés soufrés, assurant ainsi une meilleure stabilité des molécules actives et la conservation de leur potentiel bioactif (Lawson, 1998).



Figure 2.4: Presse d'extraction froide (photo original).

II.1.4. Détermination du rendement d'extraction

- **Rendement de l'huile essentielle de romarin**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter. Il est déterminé par la formule suivante :

$$R\% = (Ph/Pp) \times 100$$

R : Rendement en huile essentielle.

Ph : Poids de l'huile essentielle extraite en g.

Pp : Poids de la plante en g.

- **Rendement du macérât d'ail dans l'huile de sésame**

$$R\% = (V_i/V_f) \times 100$$

R% : Rendement en pourcentage

V_f : Volume final obtenu après macération (mL)

V_i : Volume initial de solvant (huile de sésame, en mL)

II.2. Caractérisation Physico-chimique des extraits végétaux :

II.2.1. Caractères organoleptiques et indices physicochimiques

Les huiles essentielles doivent répondre à certaines caractéristiques analytiques qui sont établies par des normes internationales ref . Pour caractériser l'huile de la plante nous avons procédé à des essais Organoleptiques et à des mesures de quelques indices physicochimiques :

- La couleur : c'est un paramètre très important. Elle est déterminée à l'œil nu.
- L'odeur : c'est un paramètre déterminé d'après teste d'odorat.
- L'aspect : Propriétés physicochimiques.

II.2.2. Analyse caractérisation Chimiques par Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

Les analyses par CG/SM ont été effectuées un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse de type Shumadzu TQ-8030 MC/W/O au laboratoire de Centre de Recherche et technique en Analyse Physico-chimique (CRAPC), Tipaza., équipé d'un détecteur et muni une colonne capillaire en silice fondue de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 2 °C/ min pendant 43,33 minutes. La température de L'injecteur est fixée à 250 °C et celle de détecteur à 250 °C. Le débit de gaz vecteur (Helium) est fixé à 0.5 µL/min. Le volume de l'échantillon injecté est 0.5 µL de l'huile pure diluée à 10 % dans solvant.

II.3. Activités Biologiques

II.3.1. Activité Antimicrobienne

Les huiles sont testées contre les microorganismes mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 2.1 : Microorganismes testées

Souches utilisées			Référence
Bactérie	Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	Gram négatif	<i>Echerichia coli</i>	ATCC 8139
	Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
	Gram négatif	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603
champignon	<i>Aspergillus sp</i>		ATCC 16404

➤ Préparation des souches testés

Les différentes souches testées ont été repiquées par la méthode des stries dans les milieux standards(Annexe A), puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries et jusqu'à 48 heures pour champignon afin d'obtenir une culture fraîche et des colonies isolées pour des éventuelles tests (Benali *et al.*, 2017).

➤ Méthode de diffusion sur gélose

La méthode de diffusion sur milieu gélose par puits (6mm)a été adoptée pour évaluer qualitativement l'activité microbienne des différentes huiles testées. Cette méthode consiste à distribuer les extraits dans des puits creusés dans la géloseensemencée, permettant la diffusion radiale des substances et la formation éventuelle de zones d'inhibition (figure 2.1).

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par PONCE *et al*, 2003

Ils ont classé les diamètres de zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 5 classes:

- Extrêmement sensible (+++): plus de 20mm.
- Très sensibles (++) : de 15mm à 19mm.
- Sensibles + : 8 mm à 14mm.
- Non sensibles- : moins de 8 mm

La mesure des zones d'inhibition permet de distinguer deux types d'actions possibles :

- Une action bactéricide, où aucune croissance bactérienne n'est observée autour des disques.
 - Une action bactériostatique, où des zones d'inhibition sont présentes, mais avec une croissance résiduelle en périphérie. Seules les bactéries sensibles à l'huile essentielle ont été sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice

Dans cette technique, chaque puits a été rempli à l'aide d'une micropipette avec 100 µL de l'un des extraits suivants :

- Huile essentielle de Romarin seule (*Rosmarinus officinalis*)
- Macérat d'ail seul (*Allium sativum* dans l'huile de sésame)
- Mélange huile essentielle de Romarin + Macérat d'ail
- Contrôle négatif : Huile de sésame (*Sesamum Indicum*)
- Contrôle positif : Amoxicilline+ Acide Clavulanique

Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne a été évaluée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'un pied à coulisse. Le test a été effectué en triplicata pour assurer la reproductibilité des résultats.

- Une action bactéricide se traduit par l'absence totale de croissance bactérienne autour des disques, indiquant que les bactéries ont été entièrement détruites par l'huile essentielle. À l'inverse, une action bactériostatique se manifeste par des zones d'inhibition avec une croissance résiduelle en périphérie, ce qui suggère une inhibition de la multiplication bactérienne sans effet létal. Dans cette étude, seules les souches sensibles à l'huile essentielle, c'est-à-dire présentant une inhibition visible, ont été sélectionnées pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), correspondant à la plus faible concentration empêchant toute croissance visible (Balouiri et al., 2016).

Dans cette technique, chaque puits a été rempli à l'aide d'une micropipette avec 100 µL de l'un des extraits suivants :

- Huile essentielle de Romarin seule (*Rosmarinus officinalis*)
- Macérat d'ail seul (*Allium sativum* dans l'huile de sésame)
- Mélange huile essentielle de Romarin + Macérat d'ail
- Contrôle négatif : Huile de sésame (*Sesamum Indicum*)
- Contrôle positif : Amoxicilline+ Acide Clavulanique

Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne a été évaluée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'un pied à coulisse. Le test a été effectué en triplicata pour assurer la reproductibilité des résultats.

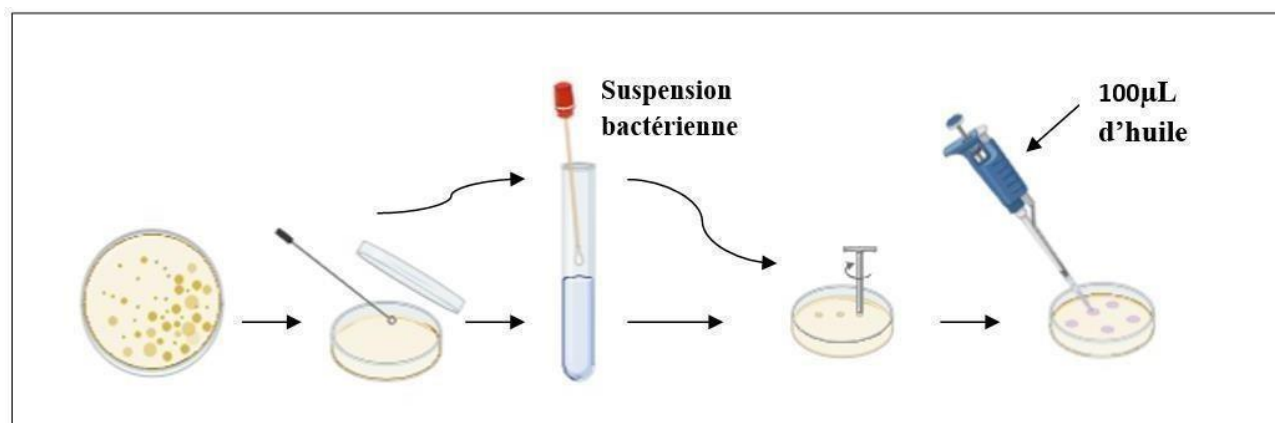


Figure 2.5: Démarche technique de la méthode de diffusion par puits

➤ Concentration Minimale Inhibitrice et effet synergique

La recherche de concentration minimale inhibitrice et (CMI) et déterminé par la méthode de microdillution en plaque (CLSI , 2020) l'effet synergique est déterminé selon la méthode

de échiquier dont on vas déterminé s'il existe un effet synergique, additif, indifférent ou antagoniste entre le macérât d'ail et l'HE de romarin contre les bactéries testées, à l'aide d'une méthode quantitative et standardisée (figure2.6). (Denes, É., Hidri,N. (2009)). La plaque est ensuite incubé a 37°.

La lecture des résultats est faite en premier temps par l' observation de la clarté ou turbidité des puits, d'où la CMI est le puits le plus dilué ne montrant aucune croissance visible. Lecture par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 257 nm

Afin d'évaluer et de comparer l'activité antibactérienne et antifongique des *extraits* d'*Allium sativum* et de *Rosmarinus officinalis* , utilisés individuellement ou en association, contre divers micro-organismes plus spécifiquement sur l'aspect cellulaire et morphologique des microorganisme.

Sur chaque lame préparée un goutte d'extrait équivalant à la CMI trouvée est mélangé à la suspension fixée. La technique d'observation des souches bactérienne est effectuée par coloration de Gram (Figure2.6).

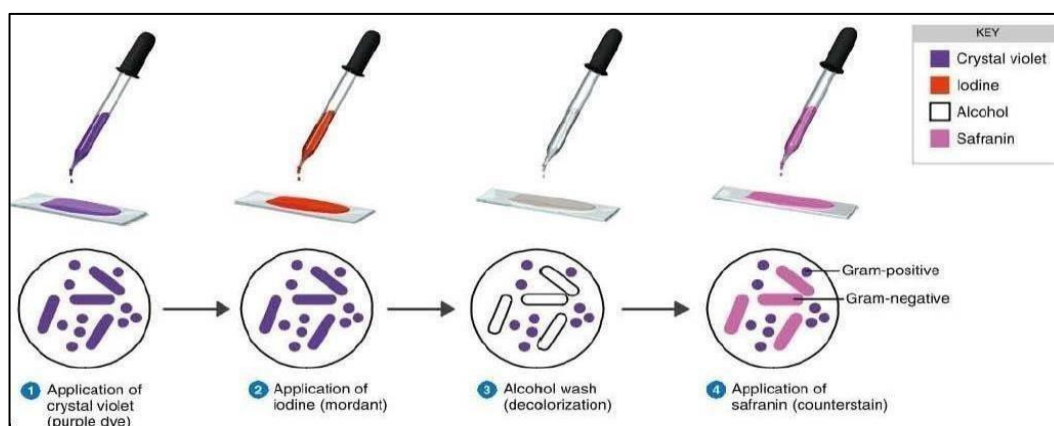


Figure 2.6: Procédé technique de la coloration des lames traités.

Pour l'*Aspergillus sp* l'observation est faite par coloration au bleu de méthylène (Annexe E)

➤ **Evaluation du potentielle de formation des biofilms microbien :**

Pour évaluer l'effet inhibiteur de la synergie entre l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et la macération d'*Allium sativum* sur la formation de biofilms bactériens *in vitro*.

L'étude concerne à la fois une mono-souche de *Staphylococcus aureus* et un consortium bactérien comprenant l'ensemble de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

▪ **Test de Rouge Congo :**

La technique de Rouge Congo, en se liant aux exopolysaccharides du biofilm, révèle la capacité des bactéries à former cette matrice protectrice, souvent liée à la résistance aux antimicrobiens.

La démarche technique est illustrée dans le tableau suivant :

Tableau 2.2 : Approche technique du test de RougeCongo.

Étape	Description
Milieu de culture	Gélose Rouge Congo (RCA)
Phase 1 : Préparation de la culture initiale	- Mélange des 3 souches bactériennes avec BHIb puis incubé a 37C° pendant 24h
Phase 2 : Préparation des suspensions avec extraits naturels	- Préparation de 3 suspensions individuelles (une par souche) contenant : • BHIb • Bactérie • 100 µL de la combinaison d'huile essentielle de romarin et de macération d'ail- Incubation 24 h à 37°C
Ensemencement final	- Étaler les suspensions sur le milieu Rouge Congo 1 à l'aide d'une anse stérile (technique en quadrants)
Incubation finale	Incubation des boîtes ensemencées pendant 48 h à 37°C pour observer la formation ou l'inhibition du biofilm

(Freeman, ., Falkiner.et Keane, . (1989).

Les colonies productrices de biofilms apparaissent noires à bordeaux foncé, sèches et rugueuses, tandis que celles non productrices restent rouge clair et lisses. L'intégration de ce support dans le protocole expérimental a permis de mieux cerner l'action inhibitrice des extraits naturels testés, enrichissant l'analyse de leur potentiel antibactérien.

▪ Methode de culture en tube

La coloration violette détectée sur les parois internes des tubes est interprétée comme une manifestation visuelle de la production de biofilm par les micro-organismes. (El-Mahdy et Elsayed, A., & Taha.2020)

II.3.2. Activités anti-inflammatoires

L'effet anti-inflammatoire des extraits végétaux d'*Allium sativum* et de *Rosmarinus officinalis* a été examiné in vitro en utilisant le test d'inhibition de la dénaturation des protéines sériques humaines après prélèvements sanguins réalisés sur des tubes secs afin d'obtenir du sérum humain. . Selon BOUSSAH, et SIAFA, F2018 La méthode consiste a préparé quatre solutions :

- **Solution d'essai** : Mélange de solution aqueuse de sérum humain (0,45 mL) et de 10 µL de solution d'extraits végétaux (huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* ou macérat huileux d'*Allium sativum*) à différentes concentrations : 4, 2, 1 et 0,5 µg/mL pour l'ail, et 16, 8, 4 et 2,5 µg/mL pour le romarin.
- **Contrôle négatif (solution témoin test)** : 0,45 mL de solution aqueuse de sérum humain mélangée avec de l'eau distillée, sans extrait.
- **Contrôle de produit** : Eau distillée additionnée de 10 µL d'extraits végétaux à différentes concentrations, sans sérum.
- **Solution standard (contrôle positif)** : Mélange de 0,45 mL de sérum humain et de 10 µL de solution d'indométhacine à des concentrations croissantes (225, 125, 62,5 µg/mL).

Le test a été réalisé dans une plaque à 96 puits en triplicata pour chaque condition. Les échantillons ont été incubés à 37 °C pendant 20 minutes, puis la température a été augmentée progressivement jusqu'à 57 °C pendant 3 minutes. Après cette phase thermique, les échantillons ont été laissés à température ambiante pour refroidissement. Puits une lecture par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 252 nm (Figure 2.8), et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = \left[100 - \frac{(\text{DO de la solution d'essai} - \text{DO de contrôles des produits})}{\text{DO de test contrôle}} \right] \times 100$$

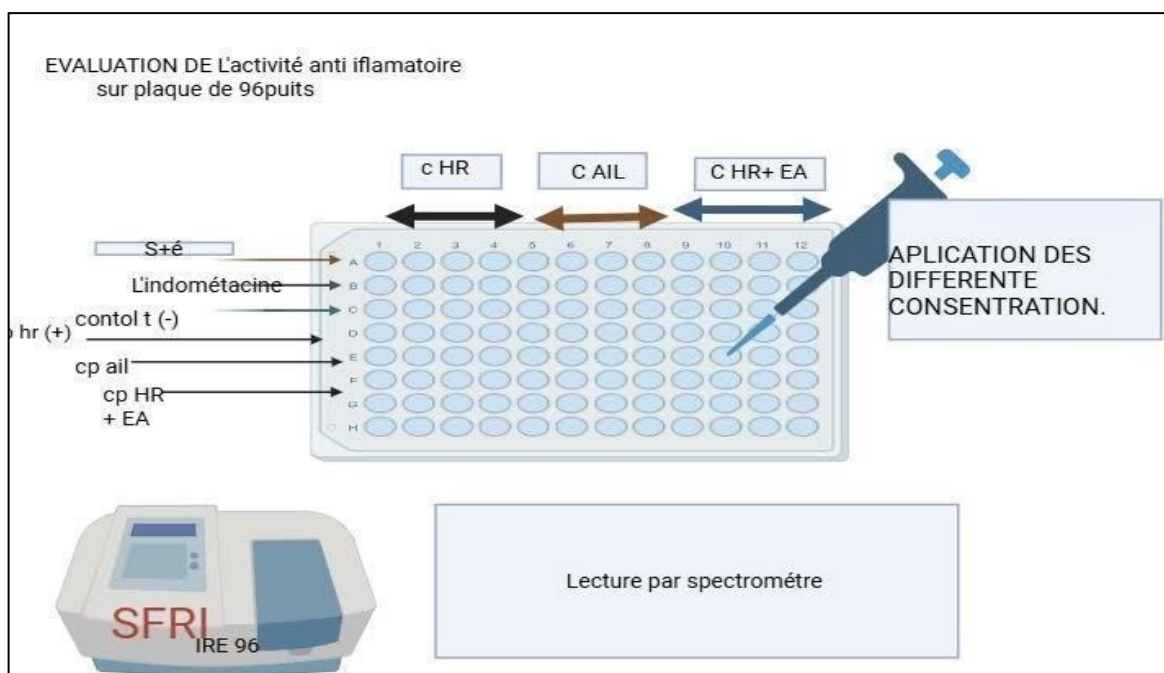


Figure 2.7: Approche technique appliqué à l'évaluation de l'activité anti inflammatoire

C HR : concentration de l'huile essentielle de romarin ;C EA : concentration du macérat d'ail ,control t(-) :témoin négatif

II.3.3. L'activité antioxydant

L'activité antioxydant d'huiles testées ont été analysées en utilisant le test du DPPH. Cette méthode permet d'évaluer la capacité des extraits à neutraliser les radicaux libres et à agir comme donneurs d'électrons, jouant ainsi un rôle clé dans l'action antioxydant (Ebrahimzadeh et *al.*, 2008).

Une série de quatre dilutions successives (au 1/2) des huiles a été réalisée à partir d'une solution mère à 4 µL/m et 16 µL/m dans le méthanol. Chaque concentration a été testée en triplicat, avec l'ajout de 100 µL de DPPH (100 µg/mL dans le méthanol) dans chaque puits d'une plaque de microtitration à 96 puits.

Un contrôle négatif a été réalisé en utilisant 100 µL de solution de DPPH, tandis qu'un contrôle positif a été établi avec une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique (1 mg/mL). La réaction a été incubée à l'obscurité pendant 20 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Figure 2.3.6) (Otohinoyi et *al.*, 2014)

Le pourcentage d'inhibition du DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{Activité antiradicalaire} = \left[\frac{(\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs huile})}{\text{Abs contrôle négatif}} \right] \times 100$$

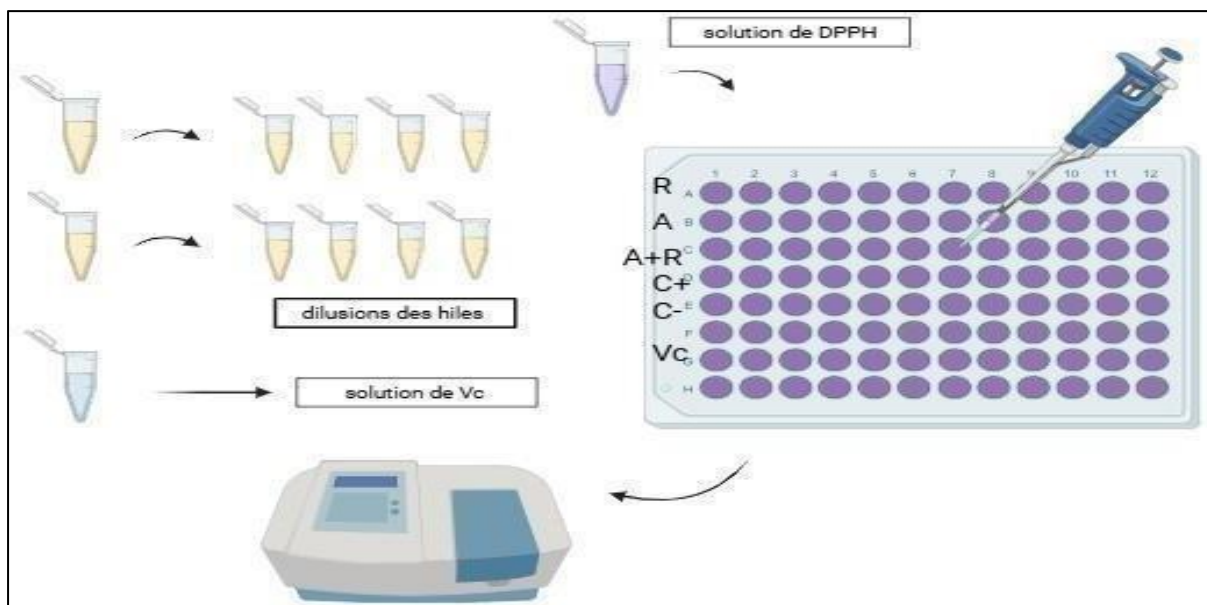


Figure 2.8: Approche technique pour l'étude de l'activité antioxydant

R : l'huile essentielle de romarin ; **A** : macération de l'ail ; **A+R** : l'huile essentielle de romarin , **A** : la macération de l'ail ; **C+** : **control positive**
c- : **control negative** ; **Vc**: vitamin c

II.3.4. Activité anti-apoptotique et anti-nécrotique :

L'effet de la combinaison des extraits végétaux étudiés (*Allium sativum* et *Rosmarinus officinalis*) sur les cellules sanguines a été évalué par la technique de coloration May-Grünwald-Giemsa (MGG), selon le protocole de Taatjes et al. (2008). Cette méthode repose sur l'utilisation de deux colorants neutres permettant une visualisation fine et différenciée des structures cellulaires, notamment les noyaux, le cytoplasme, ainsi que les altérations morphologiques associées à la mort cellulaire.

L'étude a été réalisée chez quatre patientes : deux atteintes de cancer du sang et deux témoins saines. Comme illustré dans la figure 2.10, un prélèvement de sang total anticoagulé (EDTA ou héparine) a été effectué pour chaque patiente. Le sang a ensuite été incubé à 37 °C pendant 1 à 3 heures avec des concentrations croissantes de la combinaison des extraits végétaux (50 et 100 µg/mL).

Après incubation, des frottis sanguins ont été préparés, fixés au méthanol, puis colorés successivement avec la solution de May-Grünwald pendant 5 minutes, suivie d'une coloration au Giemsa dilué (1:5) pendant 10 à 15 minutes (voir Annexe F).

L'observation microscopique a permis d'analyser les effets différentiels entre les échantillons cancéreux et les témoins sains, en se basant sur la morphologie :

des globules rouges : recherche de déformation membranaire et d'hémolyse ;

des globules blancs : détection de signes d'apoptose (condensation nucléaire, fragmentation) et de vacuolisation cytoplasmique ;

des plaquettes : présence d'agrégats plaquettaires anormaux.

La coloration May-Grünwald-Giemsa permet une visualisation précise de l'apoptose grâce à la mise en évidence de plusieurs marqueurs morphologiques caractéristiques. Les cellules apoptotiques présentent une condensation de la chromatine, une réduction du volume cellulaire, une fragmentation nucléaire ainsi que la formation de corps apoptotiques. Ces modifications sont particulièrement visibles au microscope optique à fort grossissement ($\times 100$ à immersion), où les noyaux apparaissent intensément basophiles, rétractés et parfois fragmentés. Ces critères permettent de distinguer les cellules apoptotiques des cellules intactes ou nécrotiques, facilitant ainsi l'évaluation comparative de l'effet protecteur des extraits testés.

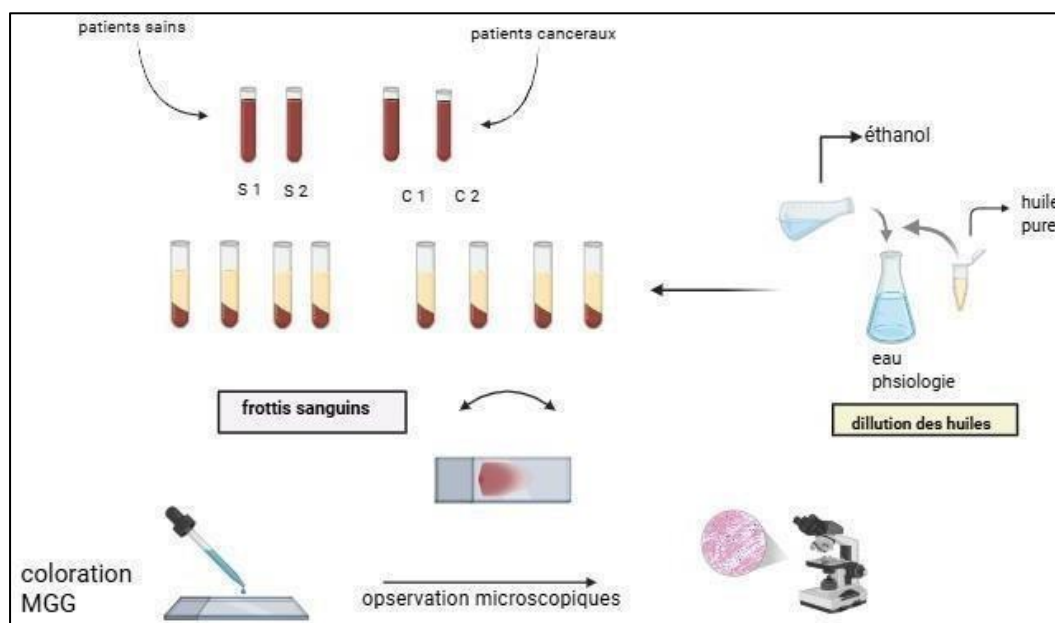


Figure 2.9 : Procédure technique de la méthode de coloration May-Grünwald-Giemsa

II.3.5. Activité mutagène :

Pour évaluer l'effet mutagène des extraits étudiés (huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et macérat d'*Allium sativum*), un test d'Ames a été réalisé selon la méthode citée par Ames *et al* 1982. Comme a été décrit sur la figure (2.11)

Cette methode repose sur le principe du changement phénotypique des souches mutantes de *Salmonella typhimurium* incapables de synthétiser l'histidine (TA98, TA100, TA1535, TA1537), avec et sans activation métabolique simulée par l'ajout d'un mélange enzymatique S9 provenant de foie de rat induit.

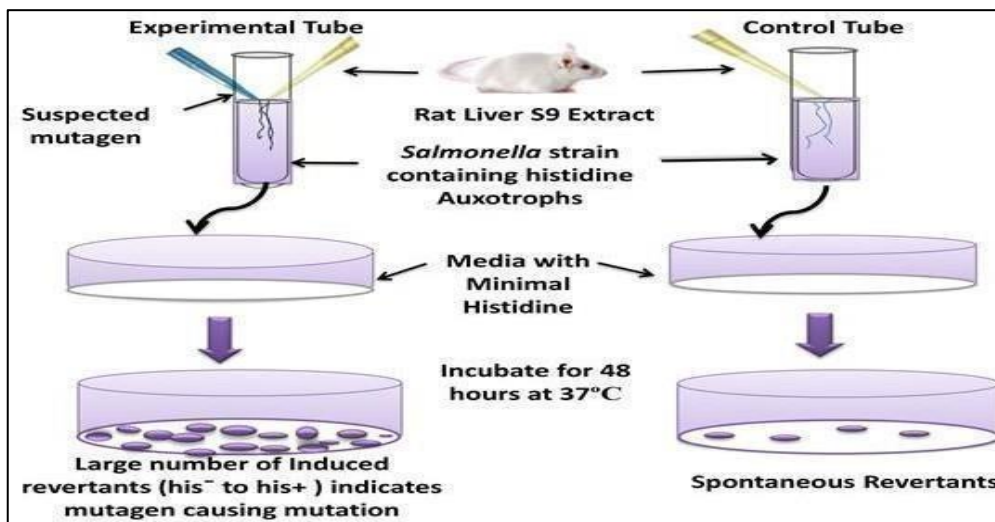


Figure 2.10 : Approche technique du test d'Ames (Ames *et al.*, 1975b; Levin *et al.*, 1982)

Le nombre de colonies révertants (His⁺) a été compté et comparé aux témoins négatifs (solvant seul) et positifs (mutagènes connus) pour déterminer la capacité mutagène des extraits. Ce protocole permet une évaluation rapide, sensible et économique du potentiel mutagène des substances naturelles telles que l'huile essentielle de romarin et le macérât d'ail, en tenant compte de leur possible.

II.3.6. : Évaluation in silico du potentiel pharmacologique des composés actifs d'*Allium sativum* et *Rosmarinus officinalis*

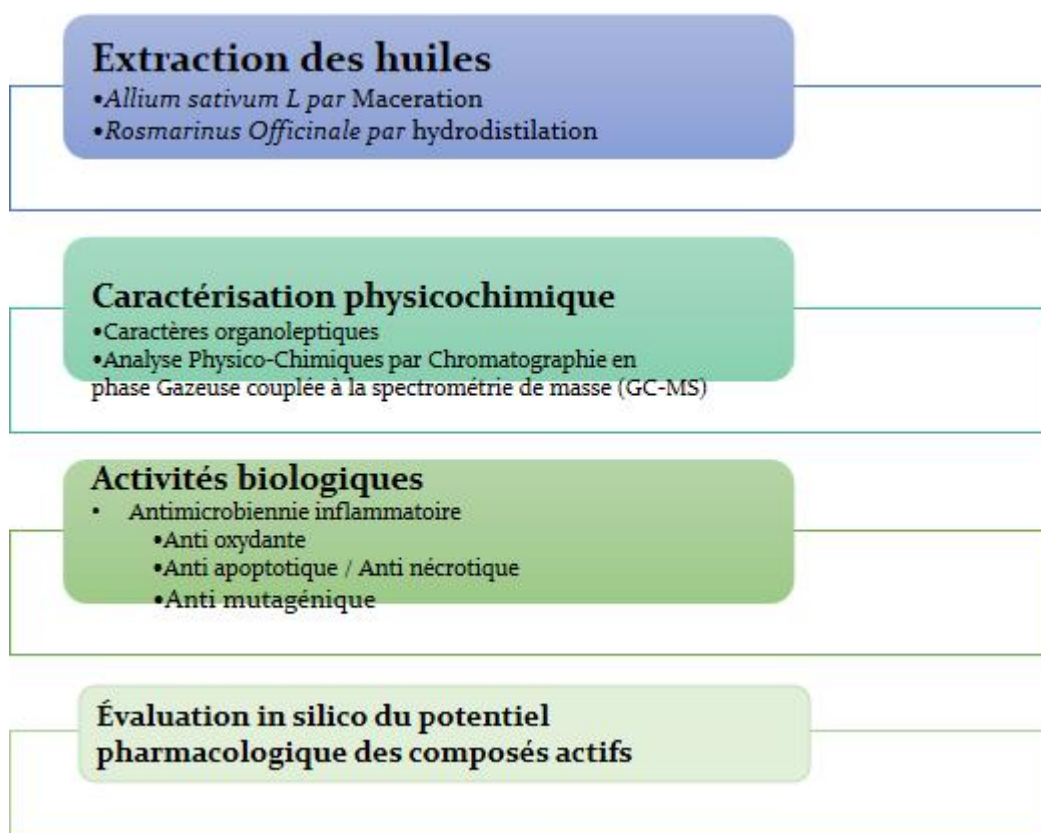
Dans le cadre de cette étude, une approche in silico a été utilisée pour évaluer les propriétés pharmacocinétiques des principales molécules bioactives identifiées dans *Allium sativum* et *Rosmarinus officinalis*. Cette évaluation a été réalisée à l'aide de l'outil **ADMETlab 3.0** et **SwissADME**, permettant une prédiction fiable des propriétés **ADMET** (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) ainsi que le ciblage moléculaire.

Les composés sélectionnés ont été identifiés à partir bases de données spécialisées **PubChem**. Les structures chimiques des molécules ont été obtenues aux formats **.sdf** ou **.mol** et converties en format **SMILES** pour l'analyse (tableau 2.3).

Tableau 2.3 : Molécules bioactives identifiées dans *Allium sativum* et *Rosmarinus officinalis*.

SMILES	Composé probable	Origine
<chem>C=CCSSCC=C</chem>	Diallyl disulfide (DADS)	Ail
<chem>C=CCSS(=O)CC=C</chem>	Diallyl sulfoxide	Ail
<chem>C=CCSC[C@@H](C(=O)O)N</chem>	S-allyl cystéine	Ail
<chem>C1=CC=C(C=C1)COC(=O)C2=CC=CC=C2</chem>	Acétate de bornyle ou ester aromatique	Romarin
<chem>CC1(C2CCC(C2)C1=C)C</chem>	Bornéol dérivé / camphène	Romarin
<chem>CC1(C2CCC1(C(=O)C2)C)C</chem>	Camphre ou dérivé	Romarin
<chem>CC1=CCC(CC1)C(=C)C</chem>	1,8-cinéole ou analogue	Romarin

La démarche expérimentale globale est illustrée dans l'organigramme ci-dessous



Chapitre III: Résultats et discussions

III.1. Rendement des huiles :

Rosmarinus officinalis a permis d'obtenir un rendement de 0,637 % (v/p). Celui-ci est relativement modeste mais reste dans l'intervalle attendu pour cette espèce. des rendements plus élevés ont été rapportés par El-Demerdash et al. (3,2 %), Rezouki et al. (1,25 %) et plus faibles par **Al Zuhairi et al.2020** (0,98 %) Ces variations soulignent l'importance de ces paramètres dans l'optimisation de l'extraction des huiles essentielles. Notre rendement, bien qu'inférieur à certains rapports, peut s'expliquer par les conditions pédoclimatiques locales, la méthode de séchage, ou encore la durée de distillation appliquée.

Le rendement obtenu pour le macérât huileux d'*Allium sativum* dans est de 211,9 %, le rendement calculé prend en compte à la fois la masse initiale de l'huile végétale et les composés extraits, ce qui peut conduire à des valeurs supérieures à 100%, comme cela a été rapporté dans plusieurs études récentes (**Njoya et al., 2021 ; Benkeblia,2020**)., ce rendement est nettement supérieur au rendement de 9,4 % observé pour l'extrait aqueux du bulbe d'ail (**Sabo et al 2024**). Cette différence importante s'explique par la nature même des procédés d'extraction utilisés. le macérât huileux ne retire pas seulement les composés solubles dans l'eau, mais enrichit également l'huile de base en principes actifs liposolubles extraits de l'ail.

III.2. Caractérisation Physico-chimique des extraits végétaux étudiés

Les caractéristiques organoleptiques obtenues sont confortntte on normes présenté par Normes (AFNOR,2000 comme présenté sur le tablau 3.1 :

Tableau 3.1: Caractéristiques organoleptiques des extraits végétaux de *Rosmarinus officinalis* et du macérât d'*Allium sativum* selon les normes AFNOR (2000)

	Caractéristiques organoleptiques	Les huiles testés	Normes (AFNOR,2000)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Aspect	Liquide, mobile	Liquide, mobile Limpide
	Couleur	Jaune pale	Presque incolore à Jaune pale
	Caractéristiques	Fraiche camphrée	Caractéristique fraîche plus ou moins camphrée de l'origine
Macérât d' <i>Allium sativum</i>	Aspect	Liquide clair	Liquide clair à légèrement trouble, sans particules en suspension.
	Couleur	Jaune pâle à doré	Jaune pâle à doré, dépendant de type d'huile de base utilisée.
	Caractéristiques	Odeur piquante	Odeur piquante, typique et persistante de l'ail

III.3. Caractérisation chimique :

La chromatographie en phase gazeuse (GC) permet de séparer les composés volatils de l'huile essentielle selon leur temps de rétention (RT), qui correspond à la durée nécessaire à chaque molécule pour traverser la colonne chromatographique (figure 3.1). La spectrométrie de masse (MS) assure ensuite l'identification de ces composés en analysant leur spectre de fragmentation, lequel est comparé à une base de données de référence (bibliothèque spectrale) afin de déterminer leur nature chimique.

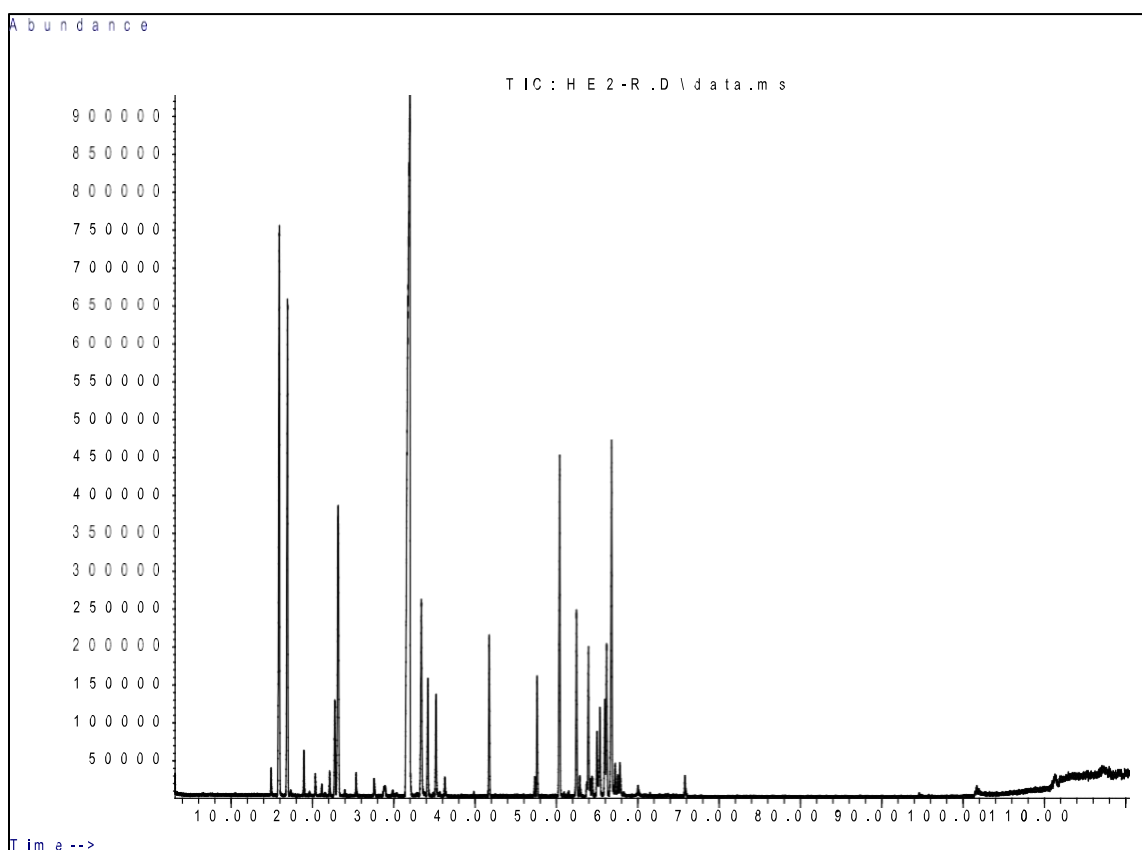


Figure 3.1: les composés majeurs dans l'huile essentielle de romarin

L'analyse GC-MS met en évidence la présence majoritaire du camphre (30,69 %), composé caractéristique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Ce monoterpène confère une odeur fraîche et camphrée et est fortement lié aux propriétés médicinales de l'huile. On note également des teneurs significatives en α -pinène (10,48 %) et en camphène (8,48 %), deux monoterpènes fréquemment rencontrés dans les huiles essentielles, jouant un rôle à la fois dans le profil aromatique et les activités biologiques (Tableau 3.2)

Tableau 3.2: les composés majeurs et leurs proportions dans l'huile essentielle de romarin

Pic	RT (min)	Composé principal	Pourcentage (%)	Qualité (%)	Description chimique / notes
2	15.927	α -Pinène	10.48	95	Monoterpène bicyclique, très commun en huiles essentielles
3	16.939	Camphène	8.48	97	Monoterpène bicyclique, contributeur d'arôme camphré
19	31.966	Camphre (Camphor)	30.69	95	Cétones bicycliques, responsable de l'odeur caractéristique du romarin
12	23.152	Limonène	6.43	50	Monoterpène cyclique, odeur d'agrumes
21	33.398	Bornéol (Borneol)	3.93	94	Alcool bicyclique, odeur balsamique
11	22.742	o-Cymène	1.42	94	Monoterpène aromatique
5	18.949	β -Pinène	0.60	93	Isomère de l' α -pinène
Autres	Divers	α -Terpinène, γ -Terpinène, Ocimène, etc.	Faible (<1%)	Varie	Divers monoterpènes et composés volatils

Le limonène (6,43 %) apporte une note citronnée, tandis que le bornéol (3,93 %) enrichit le profil avec une nuance balsamique et possède lui aussi des effets bioactifs reconnus. Les autres composés présents en plus faibles proportions contribuent à la complexité olfactive et peuvent agir en synergie pour renforcer les propriétés thérapeutiques globales de l'huile.

D'après les travaux de Khosravi, Pourmoslemi et Moradkhani (2024), l'efficacité antimicrobienne de l'ail (*Allium sativum*) est principalement attribuée à la richesse en composés organo-sulfurés, en particulier l'allicine ($C_6H_{10}OS_2$; masse molaire : 162,27 g/mol), qui peut représenter jusqu'à 60 à 80 % des composés soufrés volatils totaux de l'extrait frais. Elle est formée par la transformation enzymatique de l'alliine sous l'action de l'alliinase après la rupture des cellules de l'ail. Ce composé hautement réactif est reconnu pour sa capacité à perturber l'intégrité des membranes bactériennes, inhiber des enzymes essentielles et induire un stress oxydatif intracellulaire.

Par ailleurs, des composés tels que le 1,8-cinéole ($C_{10}H_{18}O$) et le camphre ($C_{10}H_{16}O$), bien que principalement associés au romarin, peuvent également être détectés en traces (<1 %) dans certains macérats mixtes ou extraits volatils de l'ail, selon les conditions d'extraction, et contribuer à l'effet synergique antimicrobien observé.

III.4. Activités biologiques

III .4.1.Activité antimicrobienne :

L'évaluation de l'activité inhibitrice a été réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé à l'aide de puits. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et sont présentés dans le Tableau 3.3.

Tableau3.3.: Zones d'inhibition(en millimètres) des extraits végétaux de *Rosmarinus officinalis* et du macérât d'*Allium sativum* sur différents microorganismes

Souches	Macérât d' <i>Allium sativum</i>	HE <i>Rosmarinus officinalis</i>	MA + HR	ATB
<i>Staphylococcus aureus</i>	±8mm(R)	17mm ±1 mm (S)	1mm±8mm(S)	1mm±32mm(S)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	±8mm(R)	10mm±1 mm (S)	1mm±7mm(R)	1mm±22mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(R)	(R)	(R)	Carbapénèmase +
<i>Echerichia coli</i>	Ø(mm)	Ø(mm)	Ø(mm)	
<i>Enterococcus faecalis</i>	Ø(mm)	Ø(mm)	±2mm	
<i>Aspergillus sp</i>			22± 1mm	

MA : Macérât d'*Allium sativum*

HR :huile essentiel *Rosmarinus officinalis*

HE : huile essentielle

R : Résistante **S** :sensible

Les résultats de l'activité antimicrobienne, présentés dans le tableau 3.3, indiquent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, testée à une concentration de 0,6 %, possède une activité antibactérienne notable, avec une zone d'inhibition de 17 mm contre *Staphylococcus aureus* et 10 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*. En comparaison, le macérat d'*Allium sativum* utilisé à 0,01 % a montré une activité plus faible, avec une inhibition inférieure à 8 mm, seuil interprété comme une résistance (R) pour ces deux souches.

Concernant l'activité antifongique, *Aspergillus sp* s'est révélé sensible à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, avec une zone d'inhibition mesurée à 22 ± 1 mm. Ce résultat met en évidence un fort pouvoir fongicide de cette huile essentielle, qui pourrait être attribué à la présence de composés bioactifs tels que le 1,8-cinéole, le camphre et le bornéol, connus pour perturber la perméabilité membranaire des champignons filamenteux (Nazzaro *et al.*, 2013).

La combinaison des deux extraits (0,6 % romarin + 0,01 % ail) a révélé une activité modérée, avec une zone d'inhibition de 8 mm contre *S. aureus* et 7 mm contre *P. aeruginosa*. Ces valeurs suggèrent un effet synergique limité dans nos conditions expérimentales, bien qu'une légère amélioration soit observée par rapport à l'ail seul.

En revanche, *Klebsiella pneumoniae* est demeurée résistante à tous les extraits testés, ce qui corrobore les données de la littérature soulignant la difficulté d'inhiber cette bactérie par des extraits végétaux seuls, en particulier aux faibles concentrations.

À titre de comparaison, des huiles essentielles concurrentes telles que celles de *Thymus vulgaris* ou *Origanum vulgare* ont montré des zones d'inhibition plus larges contre *S. aureus*, atteignant 20 à 25 mm dans des études antérieures (Benhalima *et al.*, 2023 ; Abed *et al.*, 2022), et des activités modérées à fortes contre *P. aeruginosa* selon la concentration utilisée. Ces données mettent en évidence une variabilité inter-espèces végétales, influencée à la fois par la composition chimique et la concentration testée. Ces résultats confirment le potentiel prometteur de l'huile essentielle de romarin à 0,6 % et la valeur complémentaire de son association avec l'ail, tout en soulignant les limites actuelles par rapport à des extraits végétaux plus puissants (Figure 3.2)

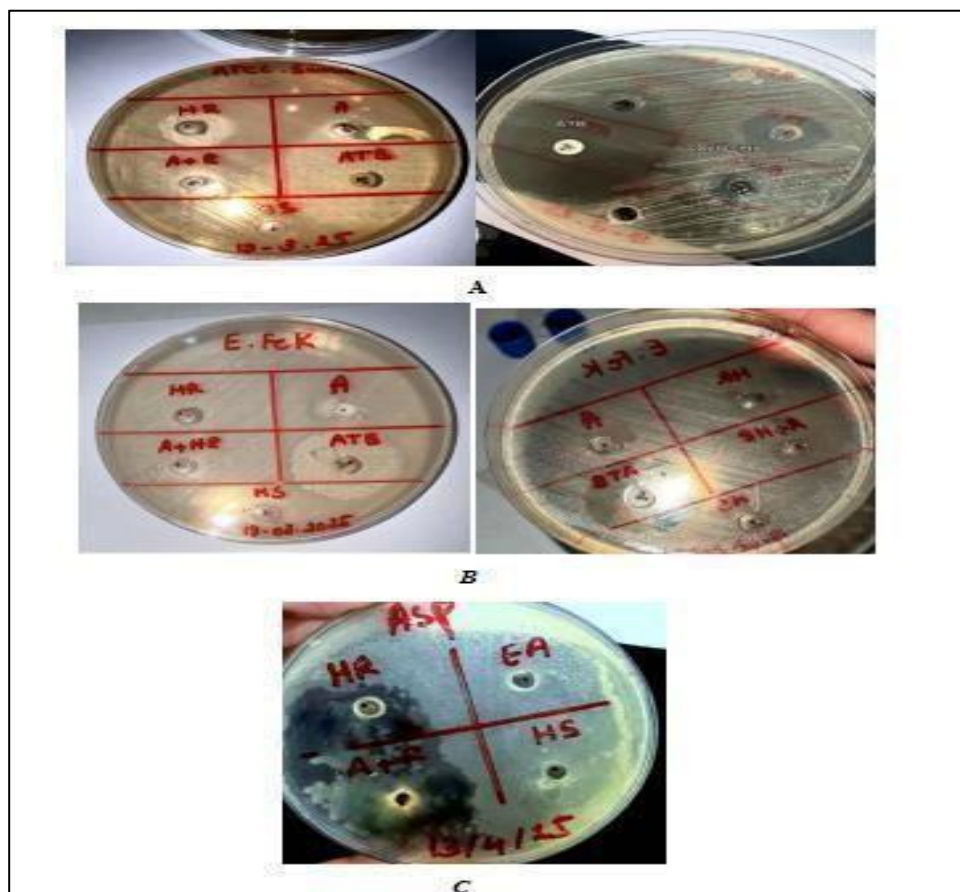


Figure 3.2: résultats de l'activité antibactérienne des extraits végétaux de *Rosmarinus officinalis* et du macérât d'*Allium sativum*

A : *Staphylococcus aureus* **B :** *Enterococcus faecalis* **C :** *Aspergillus niger*

HR: huile de romarin seul **A:** macérât d'ail seul **A+R:** la combinaison de deux extraits

Ces observations sont globalement cohérentes avec celles rapportées par **Fernandez et al. (2023)** qui ont mis en évidence une synergie significative entre l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et l'extrait d'ail, augmentant les zones d'inhibition contre les mêmes souches bactériennes, notamment *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Toute fois, *Staphylococcus aureus* fait partie intégrante de la flore de la peau et des muqueuses, et en raison de cette colonisation stable, l'effet antimicrobien contre *S. aureus* doit être particulièrement puissant pour limiter sa prolifération. C'est pourquoi l'observation d'un effet synergique fort entre les deux extraits est particulièrement intéressante, car cette synergie potentialise l'activité antibactérienne, renforçant ainsi l'efficacité contre cette bactérie souvent impliquée dans les infections cutanées. Les résultats des tests d'association réalisés par la méthode de l'échiquier (checkerboard) et calculés selon l'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (FICI), consignés dans le Tableau (3.4), montrent que

.Plusieurs combinaisons des extraits testés présentent un effet synergique ($FICI \leq 0,5$), notamment à faibles concentrations, comme l'association de 4 $\mu\text{L/mL}$ d'ail et 1 $\mu\text{L/mL}$ de romarin, pour laquelle un FICI total de 0,5 a été enregistré. Cette tendance confirme que la réduction des concentrations individuelles peut, dans certains cas, renforcer l'efficacité inhibitrice globale, ce qui traduit une synergie antimicrobienne.

Par ailleurs, l'action combinée des extraits végétaux induit une réduction significative de la production d'exopolysaccharides (EPS), composants majeurs de la matrice extracellulaire du biofilm. Cela se manifeste par des colonies bactériennes moins denses et des morphologies altérées sur milieu solide. Ces résultats mettent en évidence le potentiel thérapeutique prometteur de la combinaison d'extraits d'ail et de romarin pour lutter contre les infections bactériennes, en particulier celles impliquant des **biofilms résistants**.

Tableau3.4: Indice de concentration inhibitrice fractionnée (FICI) des combinaisons d'extraits de *Rosmarinus officinalis* et d'*Allium sativum*

CONCENTRATION		FICI			Interprétation
MA ($\mu\text{L/mL}$)	HR ($\mu\text{L/m}$)	FICI Ail	FICI Romarin	FICI total	
16	4	1.0	1.0	2.0	Indifférence
16	2	1.0	0.5	1.5	Indifférence
16	1	1.0	0.25	1.25	Indifférence
16	0.5	1.0	0.125	1.125	Indifférence
8	4	0.5	1.0	1.5	Indifférence
8	2	0.5	0.5	1.0	Additif
8	1	0.5	0.25	0.75	Additif
8	0.5	0.5	0.125	0.625	Additif
4	4	0.25	1.0	1.25	Indifférence
4	2	0.25	0.5	0.75	Additif
4	1	0.25	0.25	0.5	Synergie
4	0.5	0.25	0.125	0.375	Synergie
2	4	0.125	1.0	1.125	Indifférence
2	2	0.125	0.5	0.625	Additif
2	1	0.125	0.25	0.375	Synergie
2	0.5	0.125	0.125	0.25	Synergie

HR :huile essentielle de romarin
Inhibitory Concentrations

FIC: Fractional

Les interprétations du FICI sont les suivantes :

- $FIC \leq 0.5$: Synergie
- $0.5 < FIC \leq 1$: Additif
- $1 < FIC \leq 4$: Indifférence
- $FIC > 4$: Antagonisme

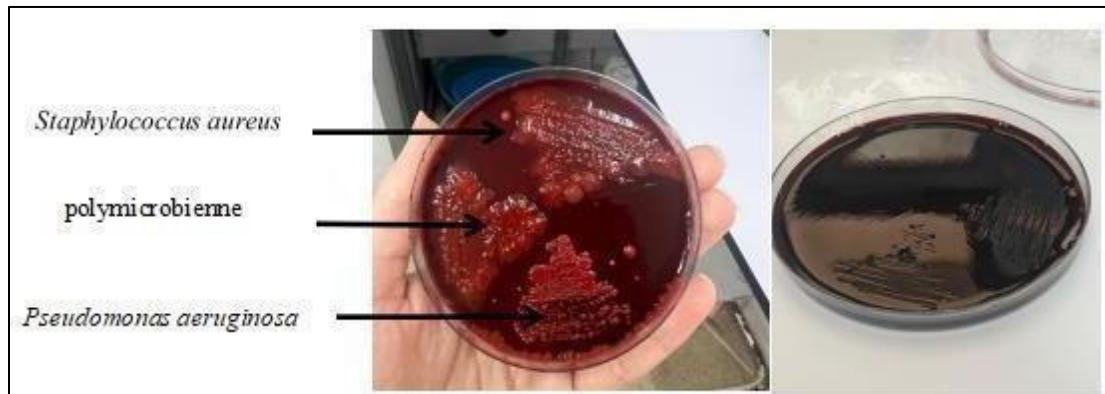


Figure3.3: résultats de test rouge congo

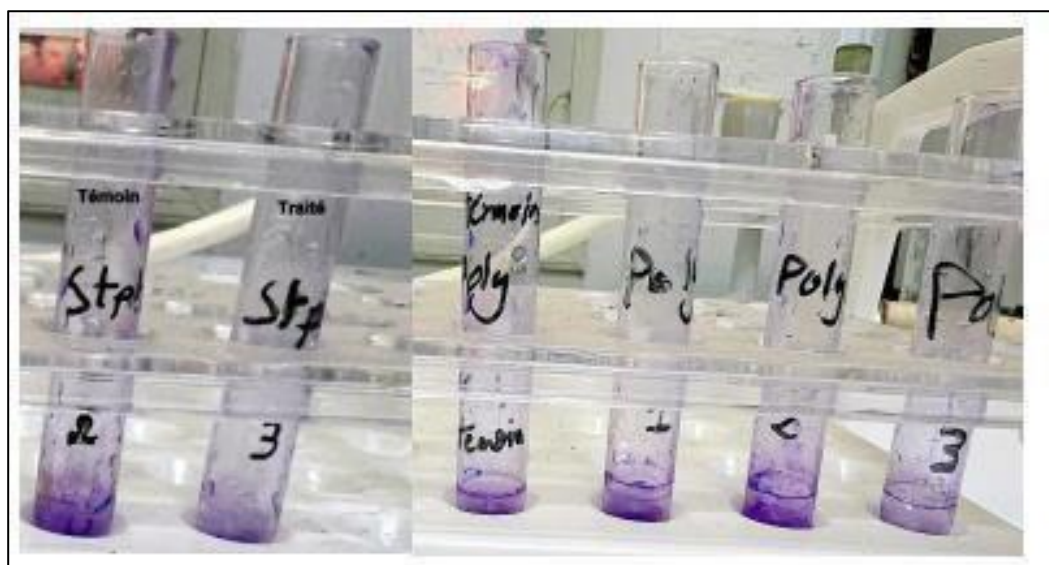
Cette diminution partielle de la production d'EPS, particulièrement marquée pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (tableau3.6) et (figure3.5), témoigne d'un affaiblissement de la virulence bactérienne sans suppression totale, ce qui est cohérent avec la résistance accrue des biofilms polymicrobiens (Granton et *al.*, 2024 ; Petrova & Sauer, 2017).

L'ajout de la bactérie *Klebsiella pneumoniae*, qui est une bacille Gram négatif souvent impliqué dans des infections nosocomiales difficiles à traiter, en raison de mécanismes multiples de résistance, notamment via des plasmides conjugués, des enzymes dégradant les β -lactamines et carbapénèmes, ainsi que des stratégies de persistance métabolique (dormance) qui limitent l'efficacité des traitements classique renforce la complexité de la flore polymicrobienne étudiée (Shadkami et *al.*, 2023 ; Vuotto et *al.*, 2017).

Tableau 3.5. : Évaluation qualitative de la capacité de formation de biofilm par *Staphylococcus aureus* et un consortium poly microbien

<i>Staphylococcus aureus</i>					Poly microbienne				
Témoin	1	2	3	4	Témoin	1	2	3	4
-	-	+	-	-	+	+	+	+	+

(+) : formation de biofilm visible ; (-) : absence de formation de biofilm



(A)

(B)

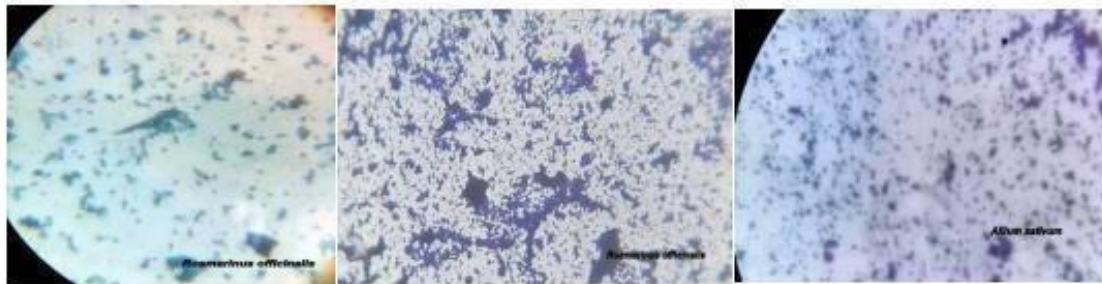
Figure 3.4 Les résultats du potentielle de formation des biofilms microbien

A: *Staphylococcus aureus*

B: polymicrobienn

Les résultats obtenus sur l'inhibition des biofilms et la réduction des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la synergie de combinaison de deux extraits un écho direct dans les observations microscopiques réalisées sur les souches bactériennes et fongiques testées.

En effet, la coloration de Gram a révélé des altérations morphologiques significatives, (figure 3.5) notamment une décoloration marquée et une diminution de la densité cellulaire chez *Staphylococcus aureus* lorsque les extraits étaient utilisés en association, ce qui corrobore la forte activité antimicrobienne synergique observée *in vitro* (FICI $\leq 0,5$).



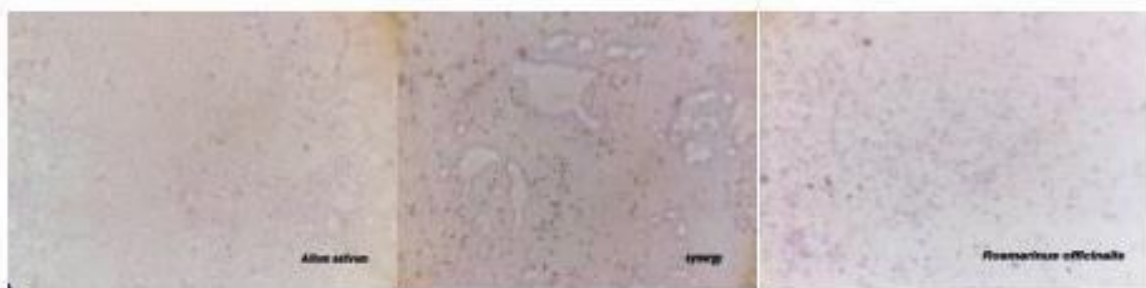
A: *Aspergillus niger* Gx40



B: *Pseudomonas aeruginosa* GX100



C: *Staphylococcus aureus* GX100



D: polymicrobienne GX100

Figure 3.5 : Résultats microscopiques de coloration de gram

Par ailleurs, l'effet antifongique observé sur *Aspergillus sp.*, avec une fragmentation et une décoloration marquée des hyphes sous l'action combinée des extraits, illustre la portée élargie de

III. 4.2. Activités Anti-inflammatoire

Figure 3.6: Effet de l'extrait et l'indométhacine sur l'inhibition de la dénaturation des protéines

Le tableau 3.6 présente les résultats de l'activité anti-inflammatoire des extraits végétaux testés en comparaison avec l'indométhacine, un anti-inflammatoire non stéroïdien de référence. Cette évaluation repose sur le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines, un marqueur reconnu de l'activité anti-inflammatoire.

Tableau 3.6. : Résultats de l'activité anti-Inflammatoire

	DO	% Inhibition
Les extraits	0.345	5
	0.245	70
	0.227	95
	0.195	95
l'indométhacine	0.252	31,5
	0.251	33,48
	0.202	40,9

Le tableau 3.6 présente les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antiinflammatoire Des extraits testés, comparés à l'indométhacine utilisée comme anti-inflammatoire de référence. Les valeurs de densité optique (DO) ainsi que les pourcentages d'inhibition correspondants y sont reportés, permettant d'apprécier l'efficacité relative des extraits à différentes concentrations.

L'analyse de l'effet synergique des deux huiles testées sur la dénaturation des protéines sérique a révélé un effet anti-inflammatoire synergique marqué de la combinaison des extraits végétaux, avec une inhibition dose-dépendante de la dénaturation des protéines sériques humaines, dépassant parfois l'efficacité d'un anti-inflammatoire de référence,

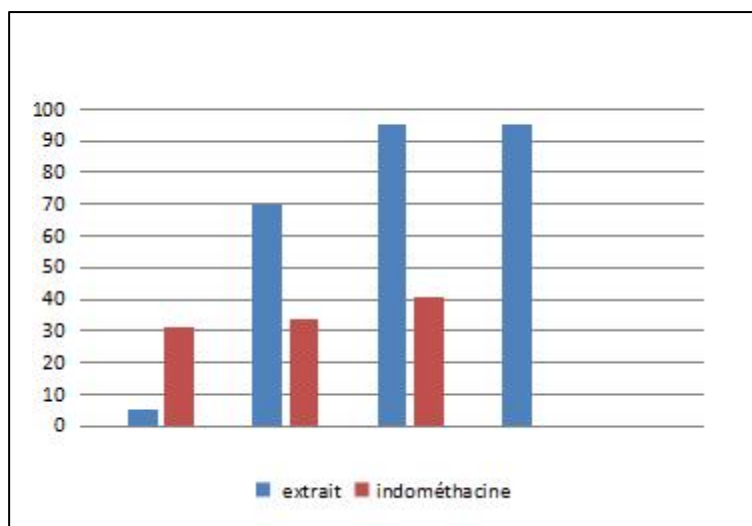


Figure 3.6.: Effet de l'extrait et l'indométhacine sur l'inhibition de la dénaturation des protéines

Ces données sont également en accord avec les résultats d'autres huiles essentielles de la famille des Lamiacées, comme *Salvia officinalis*, qui présente une forte activité anti-inflammatoire *in vitro* via la même démarche technique. Cette activité est attribuée à la complémentarité des composés bioactifs, notamment les phénols et flavonoïdes du romarin et les composés soufrés de l'ail, qui agissent sur plusieurs voies inflammatoires clés telles que NF- κ B, COX-2 et TNF- α . Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Merizigua Hibat-Ellah 2024** qui souligne l'activité anti-inflammatoire du romarin via l'inhibition de médiateurs pro-inflammatoires comme TNF- α et IL-1 β . De même des études récentes tel que **Deffaf et al., 2023** souligne la richesse en composés soufrés de l'ail, confirme son rôle majeur dans la modulation de la réponse inflammatoire.

III. 4.3. Activité antioxydante :

L'analyse des courbes d'inhibition du radical DPPH met en évidence une nette supériorité de l'activité antiradicalaire des extraits végétaux combinés par rapport à la vitamine C, référence antioxydante. À la concentration la plus élevée (C4), le taux d'inhibition atteint environ 23.33 % pour les extraits, contre seulement 13.33% pour l'acide ascorbique, ce qui confirme la capacité renforcée du mélange végétal à neutraliser les radicaux libres.

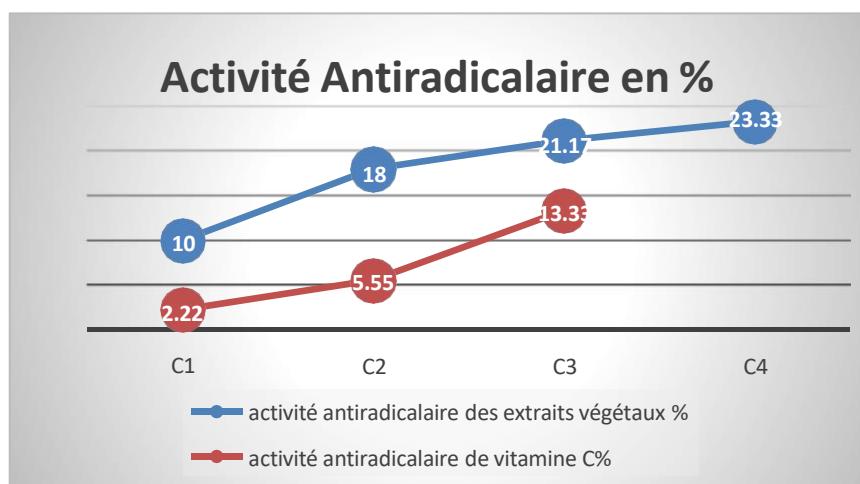


Figure 3.7 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la densité optique des extraits, DPPH et acide ascorbique

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits combinés de *Rosmarinus officinalis* et *Allium sativum* par le test de piégeage du radical DPPH (Figure 3.7) a révélé une supériorité notable par rapport à la vitamine C, utilisée comme référence. À la concentration la plus élevée testée (C4), le pourcentage d'inhibition des radicaux libres atteint environ 25 % pour le mélange d'extraits, contre seulement 15 % pour l'acide ascorbique, indiquant une capacité renforcée du mélange à neutraliser les radicaux libres. L'ajustement linéaire des données (Figure 3.5) a permis de calculer les valeurs d'IC₅₀, correspondant à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH : l'IC₅₀ des extraits végétaux combinés est d'environ 876,7 µg/mL, tandis que celui de la vitamine C est plus élevé, à 1 163,1 µg/mL. Un IC₅₀ plus faible traduit une meilleure efficacité antioxydante, ce qui signifie que le mélange d'extraits est environ 33 % plus puissant que la vitamine C dans ce modèle.

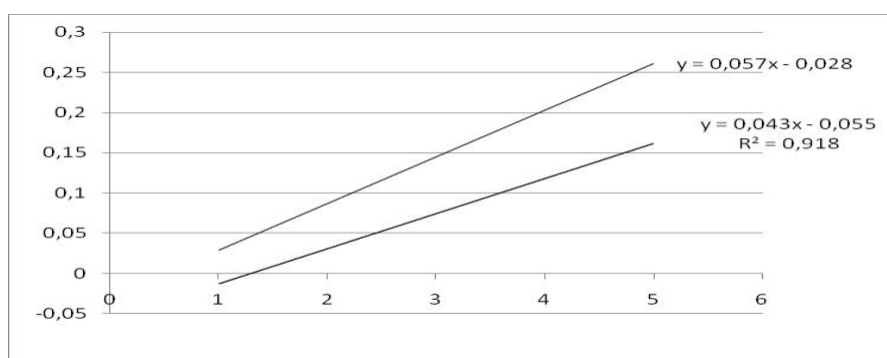


Figure3.8: Courbe représenté le taux d'inhibition I% en fonction de la concentration des extraits et Vitamine C

Ce résultat significatif corrobore l'hypothèse d'un effet synergique entre les composés phénoliques du romarin et les composés soufrés de l'ail, dont les mécanismes d'action complémentaires incluent la neutralisation directe des radicaux libres, la régénération des systèmes antioxydants endogènes (tels que le glutathion et la superoxyde dismutase) et l'inhibition des voies pro-oxydantes, conformément aux travaux de Zhang et al. (2021) et Viuda-Martos et al. (2010). La relation dose-réponse clairement observée confirme également que l'intensité de l'activité antioxydante dépend directement de la concentration en composés bioactifs, en accord avec les observations de Kaur et al. (2016).

III. 4.4. Activité anti-apoptotique et anti-nécrotique :

L'évaluation combinée des extraits d'*Allium sativum* (macérat huileux) et de *Rosmarinus officinalis* (huile essentielle) a mis en évidence une synergie intéressante entre leurs propriétés protectrices et leurs potentiels anticancéreux. (annexes F)

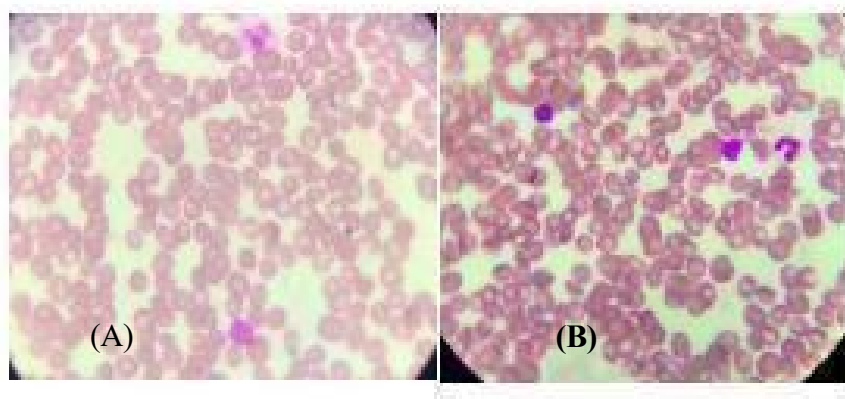


Figure 3.9: Observation microscopique de frottis sanguin par coloration May-Grünwald-Giemsa

A:patients sains

B:patients cancéreux

L'analyse morphologique des cellules sanguines humaines, tant saines que cancéreuses, après exposition à ces extraits (figure 3.10) n'a révélé ni apoptose ni nécrose, témoignant d'un effet cytoprotecteur notable, particulièrement marqué sur les globules blancs et les plaquettes. Cette activité anti-apoptotique pourrait contribuer à préserver les cellules immunitaires saines lors de traitements agressifs. Cette activité anti-apoptotique pourrait jouer un rôle protecteur en préservant les cellules immunitaires saines lors de traitements agressifs tels que la chimiothérapie. En limitant la mort cellulaire programmée (apoptose) induite par ces agents, certains extraits végétaux contribueraient à réduire les effets secondaires immunosuppresseurs, améliorant ainsi la tolérance au traitement tout en maintenant la réponse immunitaire de l'organisme.

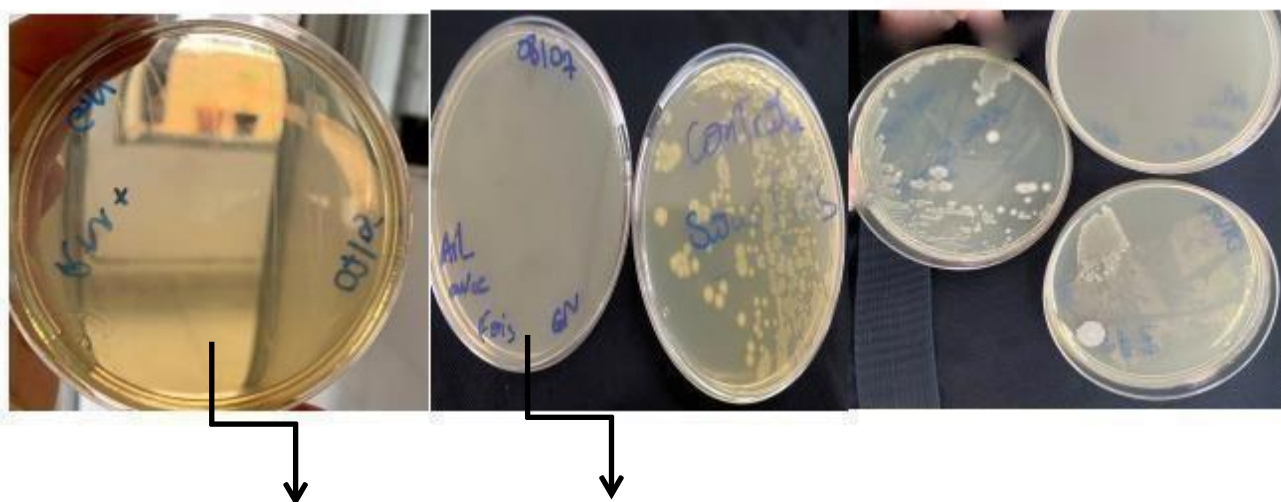
R2SULTATS ET DISCUSSION

Selon El Beyrouthy et *al.*, 2021 L'évaluation combinée des extraits d'*Allium sativum* (macérat huileux) et de *Rosmarinus officinalis* (huile essentielle) met en évidence une synergie intéressante entre leurs propriétés protectrices et leurs potentiels anticancéreux. L'analyse morphologique des cellules sanguines humaines, saines et cancéreuses (figure 3.9), après exposition à ces extraits, révèle

une absence d'apoptose et de nécrose, traduisant un effet cytoprotecteur notable, en particulier sur les globules blancs et les plaquettes . Cette activité anti-apoptotique pourrait être bénéfique pour préserver les cellules immunitaires saines lors de traitements agressifs. À l'inverse, des études antérieures menées sur la lignée cellulaire cancéreuse HCT116 ont montré que l'huile essentielle de romarin (REO), notamment lorsqu'elle est associée à la 5-fluorouracile (5-FU), exerce une cytotoxicité accrue, avec une diminution dose-dépendante de la viabilité cellulaire, suggérant une potentialisation pro- apoptotique par synergie entre les composés majeurs tels que le linalool et le 1,8-cinéole Ainsi, la combinaison ail-romarin se distingue par une dualité fonctionnelle : protectrice sur les cellules saines tout en étant potentiellement cytotoxique sur les cellules tumorales, sans mutagénicité apparente, ce qui suggère une piste prometteuse pour des applications biopharmaceutiques intégratives.

III. 4.5. Activité mutagène

L'évaluation de la mutagénicité des extraits de *Rosmarinus officinalis* (huile essentielle) et *Allium sativum* (macérat) a été réalisée à l'aide du test d'Ames sur plusieurs souches de *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537).



Témoin négative (sans le foie)

Témoin positif (avec foie)

Figure 3.10: Les résultats du test d'Ames

Les résultats ne montrent qu'aucun des extraits, à la concentration de 0,2 %, n'a induit d'augmentation significative du nombre de colonies révertants (His⁺) par rapport aux témoins négatifs, que le système d'activation métabolique S9 soit présent ou non. Cette absence d'activité mutagène suggère que ni les composés initiaux des extraits ni leurs métabolites issus de la biotransformation hépatique ne provoquent de mutations détectables *in vitro* (figure 3.10) dans les conditions expérimentales utilisées.

Ces constatations corroborent les résultats antérieurs rapportés dans la littérature, y compris les recherches de **Mortelmans et Zeiger (2000)** ainsi que **Rautio et al. (2020)**. Ces derniers mettent en évidence que malgré l'activité biologique significative des composés phénoliques du romarin et des dérivés soufrés stables de l'ail, ils ne semblent pas posséder un potentiel mutagène aux doses thérapeutiques couramment utilisées.

IV. Analyse pharmacocinétique :

L'évaluation de l'absorption intestinale (HIA) et de la traversée de la barrière hémato-encéphalique (BBB) des composés bioactifs majeurs tirés des huiles essentielles d'*Allium sativum* et de *Rosmarinus officinalis* a été réalisée grâce à l'analyse pharmacocinétique *in silico*, représentée par le diagramme « boiled-egg » (figure 3.11). Selon le (tableau 3.7), des molécules comme la disulfure de diallyle (DADS) issu de l'ail, le camphre et le 1,8-cinéole trouvé dans le romarin sont principalement situés dans la zone jaune du diagramme. Cela indique une bonne capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB+) et une absorption intestinale favorable (HIA+). Ces composés ont un coefficient de lipophilie (WLOGP) situé entre 2,5 et 3, et une surface polaire (TPSA) qui est inférieure à 40 Å², ce qui constitue des conditions idéales pour une biodisponibilité élevée. De plus, ils ne servent pas de substrats pour la glycoprotéine P, ce qui contribue à leur conservation à l'intérieur des cellules. Cependant, la S-allyl cystéine, qui est plus polaire (TPSA > 90 Å²) et située en dehors des zones propices du diagramme, montre une perméabilité intestinale et cérébrale relativement faible, ce qui entrave son potentiel pharmacocinétique. (annexe G)

Tableau 3.7: Molécules bioactives issues des huiles essentielles de *d'Allium sativum*
Rosmarinus officinalis codées en format SMILES

SMILES	Composé probable	Origine	Position dans le diagramme
<chem>C=CCSSCC=C</chem>	Diallyl disulfide (DADS)	Ail	Dans la zone jaune (BBB), WLOGP ~ 2.5-3, TPSA < 40 — Bonne pénétration BBB et HIA
<chem>C=CCSS(=O)CC=C</chem>	Diallyl sulfoxide	Ail	Dans la zone blanche (HIA), WLOGP ~ 2.5, TPSA ~ 45-50 — Bonne HIA, pas BBB
<chem>C=CCSC[C@@H](C(=O)O)N</chem>	S-allyl cystéine	Ail	En dehors de toutes les zones, TPSA > 90, WLOGP ~ 0.2 — Faible perméabilité, ni BBB ni HIA
<chem>C1=CC=C(C=C1)COC(=O)C2=CC=CC=C2</chem>	Acétate de bornyle ou ester aromatique	Romarin	Dans HIA, proche de la limite BBB — bonne absorption probable
<chem>CC1(C2CCC(C2)C1=C)C</chem>	Bornéol dérivé / camphène	Romarin	Dans la zone jaune — Bonne pénétration BBB et HIA
<chem>CC1(C2CCC1(C(=O)C2)C)C</chem>	Camphre ou dérivé	Romarin	Zone BBB — Bonne perméabilité cérébrale et intestinale
<chem>CC1=CCC(CC1)C(=C)C</chem>	1,8-cinéole ou analogue	Romarin	Zone BBB — Favorable à la diffusion cérébrale

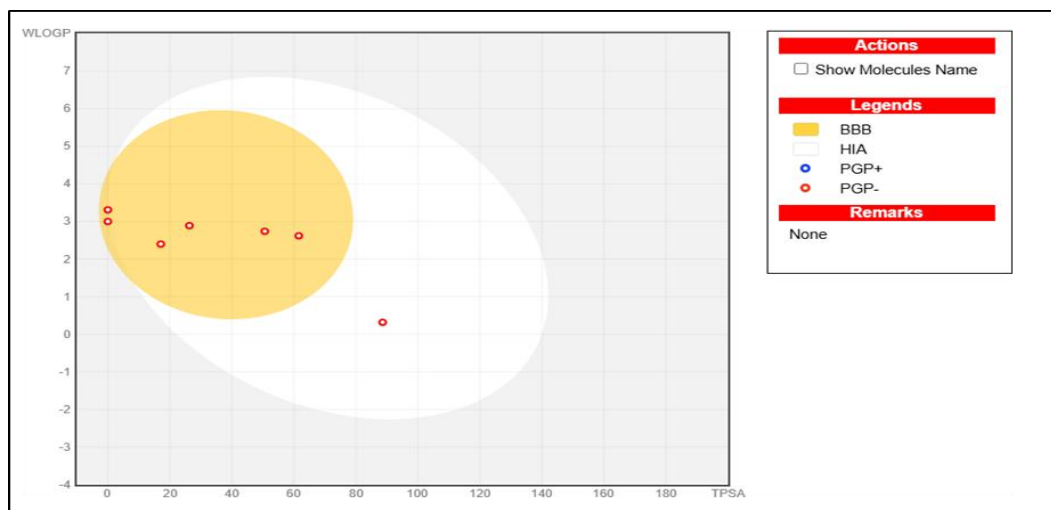


Figure 3.11: Diagramme Bioavailability Radar (WLOGP vs TPSA)

Selon Daina, Michielin et Zoete (2017) et Lipinski, les études pharmacocinétiques *in silico* révèlent que les molécules lipophiles à faible surface polaire totale (TPSA), issues des extraits végétaux d'ail et de romarin, présentent des propriétés favorables à une absorption intestinale optimale ainsi qu'à une traversée efficace de la barrière hémato-encéphalique. Ces caractéristiques soutiennent leur potentiel thérapeutique, notamment dans des applications ciblant le système nerveux central. En revanche, des composés plus polaires, tels que la S-allyl cystéine (dans l'ail) ou l'acétate de bornyle (un ester aromatique du romarin), présentent une perméabilité limitée et donc une biodisponibilité réduite. Cette observation souligne la nécessité d'optimiser la conception des composés hydrophiles, dont la biodisponibilité reste un défi fréquent, notamment pour les flavonoïdes, en raison de leur faible solubilité, de leur structure chimique complexe et de leur métabolisme rapide. L'encapsulation représente, à ce titre, une stratégie prometteuse pour améliorer la pharmacocinétique de ces composés végétaux (Patel & Goyal, 2011).

IV.2 Prédiction des cibles moléculaires des molécules bioactives extraite d'*Allium sativum*

L'analyse prédictive des cibles moléculaires (figure 3.12) révèle que ces composés interagissent majoritairement avec les récepteurs couplés aux protéines G de la famille A (39,1 % pour l'allicine, 24 % pour le DADS, 13,3 % pour le DATS).

D'autres cibles incluent des enzymes oxydoréductrices .

Les canaux ioniques et diverses protéines intracellulaires, illustrant un profil pharmacologique diversifié. La prépondérance des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) en tant que cibles principales, comme illustré dans la (figure 3,12) indique un potentiel rôle modulateur de l'ail sur les réponses immunitaires et neuronales. Cela pourrait expliquer les divers effets observés *in vitro* de l'ail, tels que ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes. La diversité de interactions de ce profil justifie la pertinence de l'ail en tant que candidat thérapeutique naturel, en particulier pour réguler l'immunité et protéger les cellules.

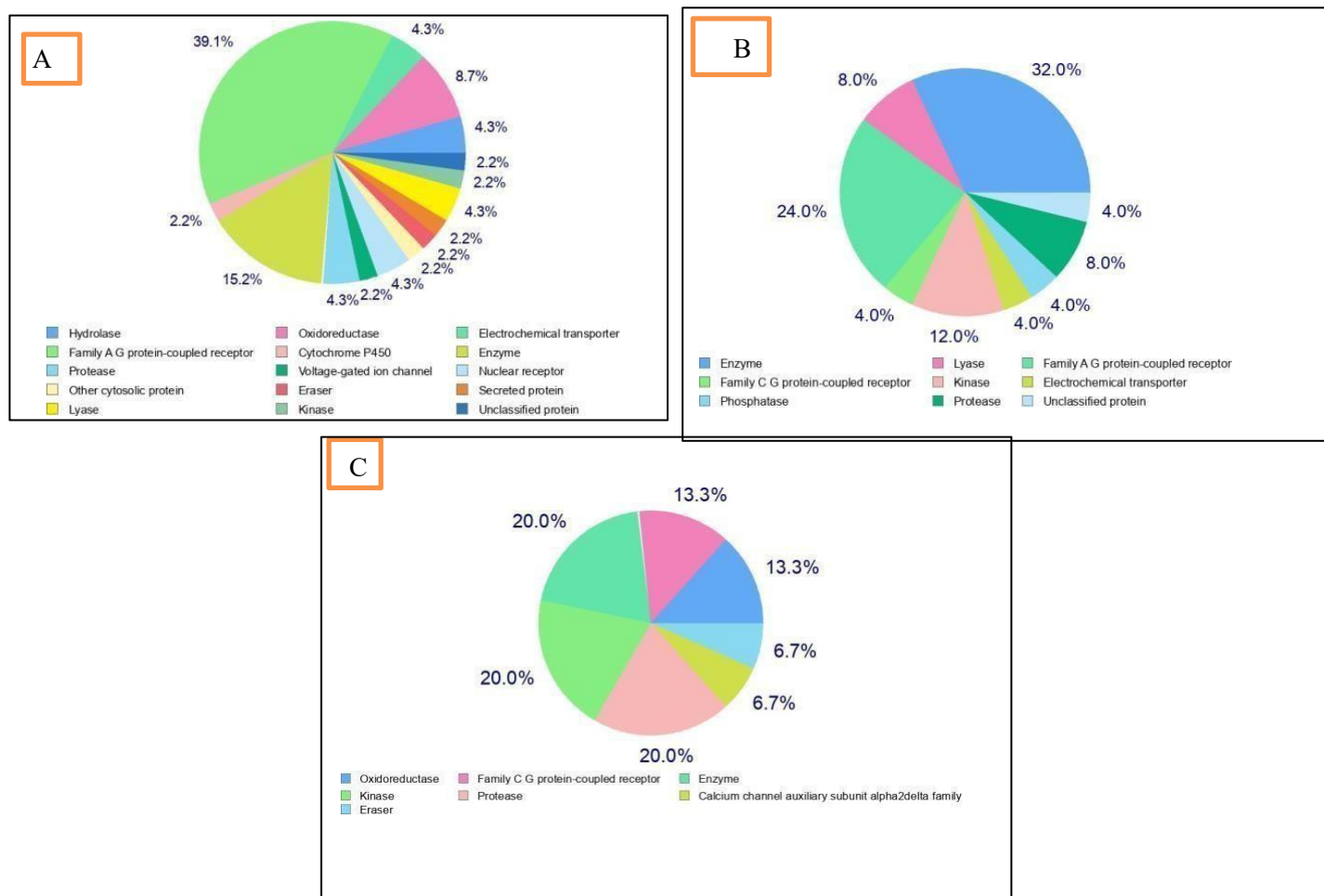


Figure 3.12. : Cibles moléculaires des molécules bioactives extraite d'*Allium sativum* par *Swiss Target Prediction*

A : Allicine ; **B :** Diallyl disulfide (DADS); **C:** Diallyl trisulfide (DATS)

IV.3. Prédiction des cibles moléculaires des molécules bioactives extraite d' *Rosmarinus officinalis* :

La prédiction des cibles moléculaires (figures 3 .13 Graphiques A, B, C, D) met en évidence une prédominance de la transferrine (40 % dans les graphiques A et C), impliquée dans le transport du fer, et des récepteurs nucléaires (33,3 % dans le graphique D), associés à la régulation de l'expression génique. Les autres cibles comprennent des enzymes, des récepteurs couplés à des protéines G, des cytochromes P450, des canaux ioniques, des protéases et des hydrolases.

L'importance prépondérante de la transferrine (Graphiques A et C) indique que le romarin pourrait avoir un impact sur la régulation du fer, alors que l'engagement significatif des récepteurs nucléaires (Graphique D) suggère une aptitude à contrôler la transcription génique et la différenciation cellulaire. L'action multifactorielle du romarin sur la détoxification hépatique, la signalisation cellulaire et la modulation immunitaire est confirmée par la diversité des autres cibles (Graphique B). Ces résultats éclairent les effets traditionnellement associés au romarin, tels que ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et protectrices. Ils soutiennent également son attrait pour l'élaboration de remèdes naturels (Annexe G)

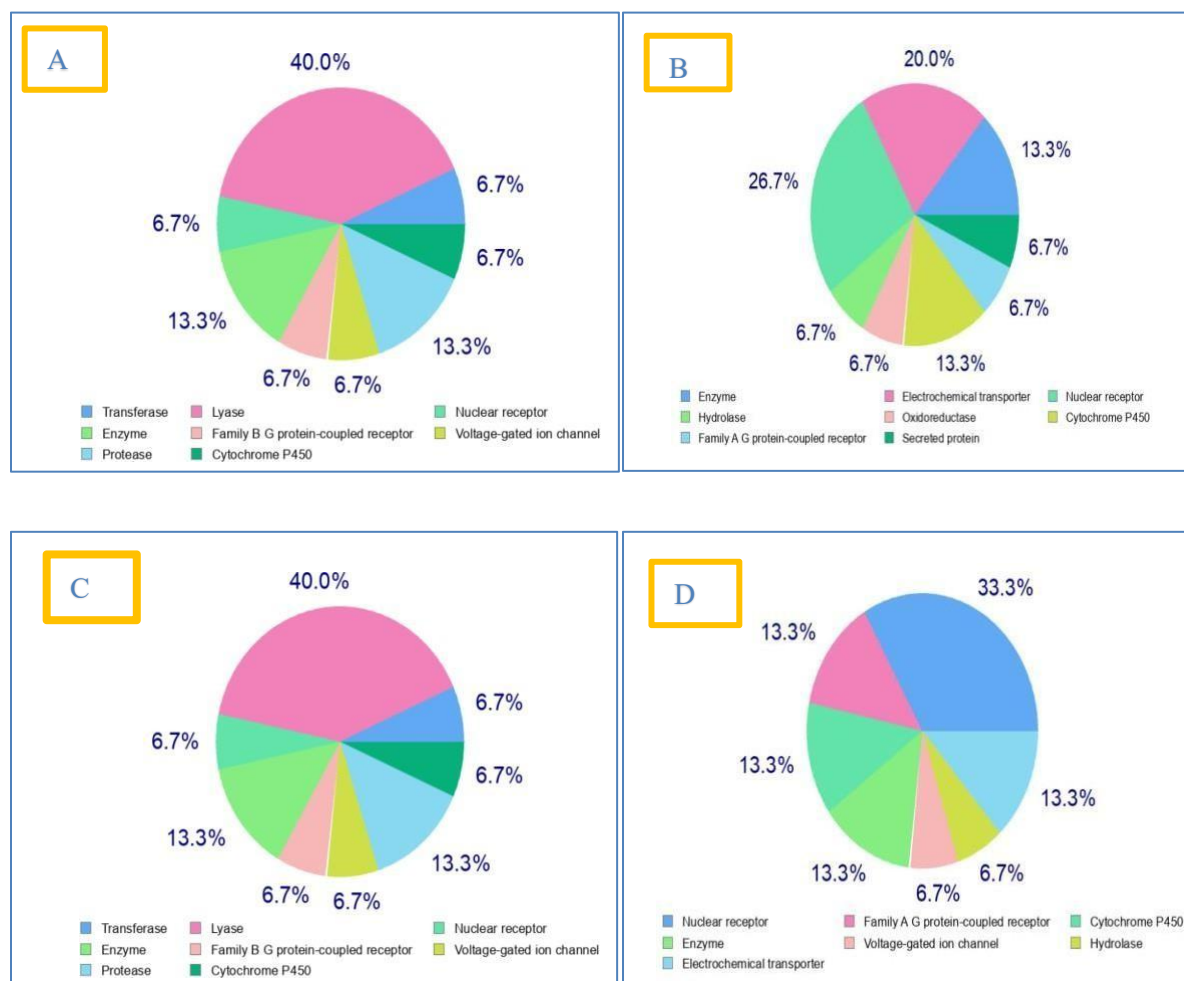


Figure 3.13. : Cibles moléculaires des molécules bioactives d' *Rosmarinus officinalis*
extraite par *SwissTargetPrediction*

Graph A : 1,8-cinéole (eucalyptol) Graph B : Camphre

Graph C : Bornéol dérivé Graph D : Acétate de bornyle

Selon Hauser, et *al* 2017 Le large éventail de cibles moléculaires repérées pour l'ail (essentiellement les GPCR) et le romarin (transferrine et récepteurs nucléaires) témoigne de la complexité et de la synergie inhérentes à leurs effets pharmacologiques. La connaissance des modes d'action et des caractéristiques pharmacocinétiques accentue l'attrait de ces extraits végétaux pour l'investigation et l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques.

L'évaluation des extraits végétaux teste un champ d'étude dynamique, avec des recherches axées sur leurs propriétés antimicrobiennes et l'identification de leurs constituants confirme Singh, S., & Singh, B. (2024).

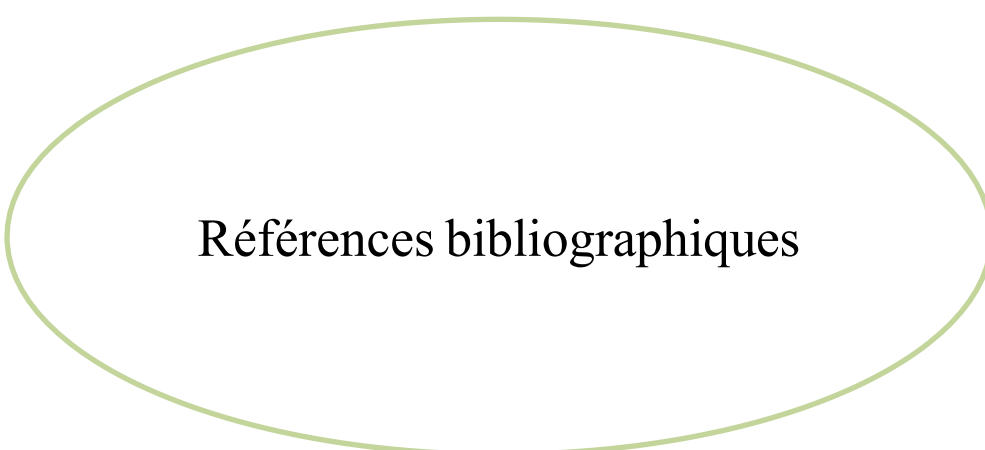
Les instruments de prédiction *in silico*, tels que SwissTargetPrediction, jouent un rôle crucial dans l'exploration du potentiel thérapeutique des molécules bioactives et la direction des recherches à venir .

Conclusion et Perspectives

Les substances bioactives *extraites d'Allium sativum (ail)* et de *Rosmarinus officinalis* (romarin) présentent un potentiel thérapeutique prometteur dans la prise en charge de l'alopécie. Les résultats obtenus dans cette étude mettent en lumière l'efficacité notable des extraits de romarin et d'ail, comme en témoignent les concentrations minimales inhibitrices (CMI) respectives de 4 pour le romarin et 16 pour l'ail. Ces valeurs démontrent la puissance antimicrobienne significative, confirmant leur potentiel prometteur de leurs propriétés, antioxydantes et anti-inflammatoires. L'huile essentielle de romarin, riche en composés comme le cinéole, a montré une efficacité comparable au minoxidil pour traiter l'alopécie androgénétique, avec moins d'effets secondaires tels que l'irritation du cuir chevelu. Le macérât huileux d'ail, bien que moins antibactérien, stimule la microcirculation cutanée, favorisant la santé des follicules pileux. Leur combinaison synergique améliore globalement l'efficacité, notamment en inhibant la formation de biofilms bactériens responsables des infections cutanées liées à l'alopécie. Leur sécurité d'utilisation est confirmée par l'absence de génotoxicité et un profil cytoprotecteur. Ces résultats fournissent une base scientifique solide pour développer une formulation biopharmaceutique naturelle innovante pour une gestion durable de l'alopécie.

Dans le prolongement des résultats obtenus, il apparaît essentiel d'orienter les recherches futures vers des axes prioritaires afin de consolider et d'approfondir la compréhension des effets thérapeutiques des extraits *d'Allium sativum* et de *Rosmarinus officinalis* dans le traitement de l'alopécie.

- Approfondir les études in vivo sur des modèles animaux pour valider les effets observés in vitro dans un contexte physiopathologique complexe.
- Développer des formes galéniques innovantes (nanoémulsions, liposomes) pour améliorer la pénétration cutanée et la stabilité des composés actifs.
- Mettre en place une standardisation rigoureuse des extraits et isoler les molécules bioactives clés pour garantir la reproductibilité et l'efficacité industrielle.
- Réaliser des essais cliniques exploratoires pour évaluer la tolérance, la sécurité et l'efficacité des formulations combinées chez l'humain, en comparaison aux traitements conventionnels.
- Étudier plus en détail les mécanismes moléculaires d'action, notamment l'inhibition de la DHT par les composés du romarin, pour mieux cibler les différents types d'alopécie.
- Envisager l'utilisation prolongée avec précaution, en tenant compte des possibles effets secondaires ou irritations, notamment pour les huiles essentielles (ex : romarin à diluer) et l'ail.
- Explorer la synergie entre les extraits naturels et d'autres traitements innovants comme la mésothérapie ou le microneedling pour optimiser la repousse capillaire.



Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- ADMETLab 3.0 (2023). Online platform for ADMET prediction.
<https://admetmesh.scbdd.com>
- Ahmed, A., Ali, N., et; Rehman, H. (2023). Role of garlic in metabolic disorders. *Journal of Herbal Medicine*, 13(4), 91–100. <https://admetmesh.scbdd.com>
- AFNOR. (2000). Huiles essentielles – Normes de qualité et critères analytiques. Association Française de Normalisation.
- Al Zuhairi, M., & Al Khafaji, W. (2020). Antimicrobial activity of rosemary essential oil. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 15(2), 55–62.
- Ames, B. N., Durston, W. E., Yamasaki, E., et; Lee, F. D. (1975). Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(8), 2281–2285.
- Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, 1(2), 125–129.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., et; Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- Batiha, G. E.-S., et al. (2020). The pharmacological activity, biochemical properties and pharmacokinetics of allicin: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110632.
- Bechaa, Z. (2020). *Étude phytochimique et biologique de l'ail (Allium sativum L.)* (Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Blida, Algérie).
- Benali, A., Khellaf, M., & Yousfi, M. (2017). Propriétés antimicrobiennes de l'ail. *Revue Algérienne de Biotechnologie*, 8(2), 22–31.
- Benkeblia, N. (2004). Antioxidant activity of essential oil extracts from various plants. *Food Chemistry*, 85(4), 513–518.
- Benkeblia, N. (2004). Antioxidant activity of essential oil extracts from various plants. *Food Chemistry*, 85(4), 513–518.
- Berkane, A. (2015). Écologie et importance médicinale de *Rosmarinus officinalis* dans le bassin méditerranéen.
- Boussaha, B., & Siafa, F. (2018). Effets anti-inflammatoires de plantes médicinales utilisées en Algérie. *Journal Algérien des Sciences Pharmaceutiques*

- Boussahel, M., Touazi, K., & Bensoltane, A. (2022). Effet antioxydant de l'association ail-romarin. *Bulletin de la Recherche Biologique*, 9(1), 77–83.
- Bourgoïn, J., et al. (2017). Étude nutritionnelle de l'ail. *Revue de Phytothérapie*, 17(2), 88–94.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier.
- Centre de Médecine Esthétique du Dr Costa. (2015). Anatomie du cheveu et cycle pileux.
- Clinique de Verdun. (s.d.). Alopecie androgénétique et action de la DHT.
- CLSI. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Colin, L. (2016). Les composés soufrés dans l'ail: Rôle biologique et pharmacologique.
- Costa, N. (s.d.2024). Action hormonale sur le cuir chevelu.
- Creative Diagnostics. (n.d.). Microdilution method for MIC determination. <https://www.creative-diagnostics.com/>
- Creative Diagnostics. (n.d.). Microdilution method for MIC determination. <https://www.creative-diagnostics.com/>
- Daina, A., Michielin, O., et Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717.
- Deffaf, A., Ouakrim, R., & Boudissa, S. (2023). Évaluation des effets anti-inflammatoires de *Rosmarinus officinalis*. *Revue Algérienne de Biologie*, 15(3), 155–164.
- Denes, É., et Hidri, N. (2009). Evaluation des effets combinés d'huiles essentielles. *Cahiers de Biologie Pharmaceutique*, 50(3), 123–132.
- El Beyrouthy, M., Al-Badawi, A., & Zoghbi, N. (2021). Synergistic apoptotic effect of rosemary essential oil and 5-FU on HCT116 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113–127.
- El-Demerdash, F. M., & Salama, O. M. (2020). Comparative yield and chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 13(1), 77–81.
- El-Mahdy, R., Elsayed, A., & Taha, R. (2020). Evaluation of antibiofilm activity of plant extracts using Congo red and tube methods. *Journal of Infection and Drug Resistance*, 13, 477–485.

Références Bibliographique

- Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Deroanne, C., & Attia, H. (2007). Quality characteristics of sesame seeds and by-products. *Food Chemistry*, 103(2), 641–650.
- Fernandez, L., Garcia, R., & Lopez, J. (2023). Synergistic antimicrobial effects of rosemary and garlic extracts. *International Journal of Phytomedicine*, 11(1), 42–52.
- Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42(8), 872–874.
- Friedman, M. (2017). Antibiotic-resistant bacteria: Prevalence in food and inactivation by food-compatible compounds and plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(35), 7007–7022.
- FrMedBook. (s.d.2025). DHT and hair follicles.
- Ghesquière, J. (2016). Classification botanique et caractéristiques morphologiques de l'ail. Université Catholique de Louvain.
- Gottesman, M. M., & Ambudkar, S. V. (2001). Overview: ABC transporters and human disease. *The Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 33(6), 453–458.
- Hauser, A. S., Attwood, M. M., Rask-Andersen, M., Schiöth, H. B., & Gloriam, D. E. (2017). Trends in GPCR drug discovery: New agents, targets and indications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(12), 829–842.
- Knutson, M. D., & Wessling-Resnick, M. (2003). Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 38(1), 61–88.
- Kumar, S., Das, M., & Singh, R. (2023). Garlic: A multifunctional medicinal herb. *Journal of Food Biochemistry*, 47(1), e13521.
- Lawson, L. D., & Hughes, B. G. (1992). Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic. *Planta Medica*, 58(4), 345–350.
- Lawson, L. D., & Hughes, B. G. (1992). Characterization of the formation of Allicin and other thiosulfinates from garlic. *Planta Medica*, 58(4), 345–350.
- Lee, M. J., & Park, H. J. (2024). Cardiovascular benefits of garlic and its organosulfur compounds. *Phytomedicine*, 115, 154827.
- Levin, D. E., Yamasaki, E., & Ames, B. N. (1982). A new *Salmonella* tester strain that permits rapid detection of mutagens. *Mutation Research*, 94(3), 211–225.
- Licea-Moreno, A. (2024). Morphological variability and genetic diversity of *Allium sativum*. *Journal of Horticultural Science*, 10(1), 15–28.
- Makhoulfi, H. (2009). *Rosmarinus officinalis* : Morphologie et propriétés thérapeutiques. Université de Tizi-Ouzou.

Références Bibliographique

- Merizigua Hibat-Ellah. (2024). Étude de l'activité anti-inflammatoire de *Rosmarinus officinalis*. *Revue Maghrébine de Pharmacie*, 8(2), 65–74.
- Montagna, W., & Parakkal, P. F. (1974). *The structure and function of skin*. Academic Press.
- Mortelmans, K., & Zeiger, E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 455(1–2), 29–60.
- Mortelmans, K., & Zeiger, E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 455(1–2), 29–60.
- Mostefaï, N. (2012). Contribution à l'étude botanique de *Rosmarinus officinalis* L. dans la région de Kabylie. Université de Boumerdès.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Essential oils and antimicrobial activity. *Molecules*, 18(6), 6907–6926.
- Najja, H., Ben Salah, M., & Saad, A. (2011). Étude des propriétés antimicrobiennes de l'ail. *Tunisie Médicale*, 89(6), 458–463.
- Njoya, E. M., Tchinda, D. A., & Mbougueng, P. D. (2021). Influence of extraction methods on oil yield and physicochemical properties of *Allium sativum*. *African Journal of Food Science*, 15(5), 133–142.
- Otohinoyi, D. A., Igbokwe, N. A., & Adebayo, S. A. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected plant extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(4), 90–96.
- Otohinoyi, D. A., Igbokwe, N. A., & Adebayo, S. A. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected plant extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(4), 90–96.
- Papu, L. (2014). Propriétés biologiques des composés soufrés de l'ail. *Revue Africaine de Biologie*, 6(2), 117–123.
- Paus, R., & Cotsarelis, G. (1999). The biology of hair follicles. *New England Journal of Medicine*, 341(7), 491–497.
- Patel, D., & Goyal, A. (2011). Recent developments in natural medicine for the treatment of Alzheimer's disease. *Phytotherapy Research*, 25(7), 949–960.
- Perry, N. S. L., Bollen, C., Perry, E. K., & Ballard, C. (2003). *Salvia* for dementia therapy: Review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75(3), 651–659.
- Petiwala, S. M., & Johnson, J. J. (2015). Diterpenes from rosemary and their potential chemopreventive and therapeutic properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 5383–5397.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity

Références Bibliographique

of essential oils on native microflora and *Listeria monocytogenes* in fresh minimally processed vegetables. *Journal of Food Protection*, 66(6), 1094–1102.

- PubChem. (n.d.). Open chemistry database.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

- PubChem. (n.d.). Open chemistry database.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

- PubChem. (n.d.). Open chemistry database.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

- Randall, V. A. (2008). The hormonal regulation of hair follicles. *Clinical and Experimental Dermatology*, 33(3), 345–349.

- Rautio, J., Laine, K., Gynther, M., & Savolainen, J. (2020). In vitro to in vivo extrapolation in toxicology: Challenges and perspectives. *Toxicology Letters*, 335, 123–132.

- Rautio, J., Laine, K., Gynther, M., & Savolainen, J. (2020). In vitro to in vivo extrapolation in toxicology: Challenges and perspectives. *Toxicology Letters*, 335, 123–132.

- Reuter, H. D., Koch, H. P., & Lawson, L. D. (1996). Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In H. P. Koch & L. D. Lawson (Eds.), *Garlic: The science and therapeutic application of Allium sativum* (pp. 135–212). Williams & Wilkins.

- Reuter, H. D., Koch, H. P., & Lawson, L. D. (1996). Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In *Garlic: The Science and Therapeutic Application of Allium sativum* (pp. 135–212). Williams & Wilkins.

- Rezouki, S., Hadjiat, F., & Khelil, A. (2019). Composition chimique et propriétés biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* d'Algérie. *Phytothérapie*, 17(2), 89–96.

- Sabo, R., Tine, J., & Mahamane, S. (2024). Étude comparée de l'extraction aqueuse et huileuse de *Allium sativum*. *Journal de Recherche en Pharmacie*, 10(1), 11–18.

- Santhosha, S. G., Jamuna, P., & Prabhavathi, S. N. (2013). Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance. *Food Bioscience*, 3, 59–74.

- Seninger, M. (2009). Les vitamines hydrosolubles et liposolubles. *Revue de Nutrition Pratique*, 2, 21–29.

- Sendl, A. (1995). *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Chemistry, pharmacology, and medicinal application. *Phytomedicine*, 2(4), 323–339.

- Shang, A., Cao, S. Y., Xu, X. Y., & Gan, R. Y. (2019). Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*, 8(7), 246.

- Singh, R., & Singh, G. (2019). Review on the pharmacological aspects of *Allium sativum*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 7(1), 69–75.

Références Bibliographique

- Singh, S., & Singh, B. (2024). Synergistic antifungal activity of *Allium sativum* extract with conventional antifungals against *Aspergillus* species. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1123456.
- Smith, J., Zhou, M., & Nguyen, T. (2015). Autoimmune basis of alopecia areata. *Journal of Investigative Dermatology*, 135(4), 913–917.
- SwissADME (2023). The Swiss Institute of Bioinformatics.
<http://www.swissadme.ch>
- SwissADME (2023). The Swiss Institute of Bioinformatics.
<http://www.swissadme.ch>
- SwissADME (2023). The Swiss Institute of Bioinformatics.
<http://www.swissadme.ch>
- Taatjes, D. J., Sobel, B. E., & Budd, R. C. (2008). Morphological and cytochemical determination of cell death by apoptosis. *Histochemistry and Cell Biology*, 129, 33–43.
- Taatjes, D. J., Sobel, B. E., & Budd, R. C. (2008). Morphological and cytochemical determination of cell death by apoptosis. *Histochemistry and Cell Biology*, 129, 33–43.
- Taatjes, D. J., Sobel, B. E., & Budd, R. C. (2008). Morphological and cytochemical determination of cell death by apoptosis. *Histochemistry and Cell Biology*, 129, 33–43.
- Taatjes, D. J., Sobel, B. E., & Budd, R. C. (2008). Morphological and cytochemical determination of cell death by apoptosis. *Histochemistry and Cell Biology*, 129, 33–43.
- Trudel, C. (2005). Biochimie des protéines de l'ail. *Canadian Journal of Biochemistry*, 83(2), 121–127.
- Trueb, R. M. (2017). Molecular mechanisms of alopecia areata. *Skin Pharmacology and Physiology*, 30(6), 287–294.
- Tsai, C. W., Chen, H. W., Sheen, L. Y., & Lii, C. K. (2012). Garlic: Health benefits and actions. *BioMedicine*, 2(1), 17–29.
- WHO. (2007). Global strategy for containment of antimicrobial resistance. World Health Organization.
- Williams, D. A., Chon, S., & Davis, J. (2017). T-cell mediated inflammation in alopecia areata. *International Immunopharmacology*, 45, 168–173.
- Zhang, Y., Wang, H., & Qiao, Y. (2024). Allicin in immunity and chronic disease prevention. *Molecular Nutrition & Food Research*, 68(3), e2300489.

Annexes

1- Composition et préparation de milieu de culture (A)

Milieu	Composition	Préparation
Muller-Hinton (MH)	Caséine hydrolysée à l'acide Amidon Extrait de viande de bœuf Chlorure de sodium (NaCl) pH final (à 25 °C)	Peser 26 g de poudre MH (milieu déshydraté) pour 1 L d'eau distillée. Dissoudre complètement en chauffant doucement avec agitation. Stériliser par autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45–50 °C avant de couler dans des boîtes de Petri stériles (20–25 mL/boîte). Stockage : après solidification, conserver les boîtes à 2–8 °C, à l'abri de la lumière.

2- Appareillage, produit et réactifs chimiques utilisés :

Appareillage(B)		Produits chimiques(C)	Les réactifs chimiques(D)
Grands matériels	Petits matériels	• Éthanol • méthanol • Eau distillé • Eau physiologie • Tampon phosphate (PBS)	• Les colorants de Gram • DMSO • violet de gentiane • Colorant May-Grünwald • Colorant Giemsa
• Mortier avec pilon • Chauffe ballon • Appareil d'hydrodistillation • Réfrigérateur • Balance électronique • Étuve • Plaque chauffante • Agitateur • Autoclave • Bain marie • Spectrophotomètre	• Éprouvette • Flacons en verre • Bec Bunsen • Boîtes de pétri • Anse de platine • Portoirs • Micropipettes • Pipettes Pasteurs • Spatule • Barreaux magnétique • Écouvillons stériles • Pince • Seringue • Embouts • Les flacons • Bêchers gradués • Tubes à essai stériles • Lames • tubes sec • plaque de 96 puits		

Appareillage(B)



Boîtes de pétri , MH liquide



tubes à essai



Agitateur



une Balance



Microscope photonique



lames de microscopie et Bec bunsen



plaque de 96 puits

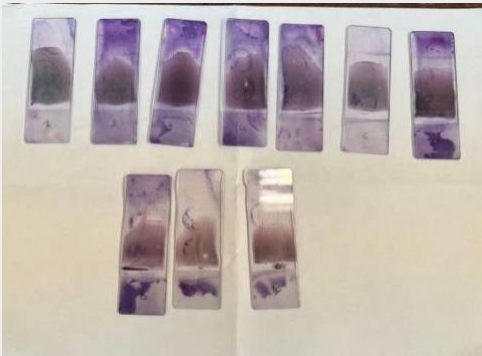


lecteur de plaque spectrophotomètre

3 -étapes de la coloration au bleu de méthylène pour l'observation d'*Aspergillus niger* au microscope optique(E)

Étape	Description
1. Préparation de la lame	Déposer une petite portion du mycélium (ou de la culture) sur une lame propre à l'aide d'une anse ou d'une aiguille stérile.
2. Ajout du colorant	Ajouter 1 à 2 gouttes de bleu de méthylène à 0,1 % sur l'échantillon.
3. Pose de la lamelle	Recouvrir délicatement avec une lamelle pour éviter les bulles d'air.
4. Attente (facultative)	Laisser agir le colorant pendant 1 à 2 minutes.
5. Observation microscopique	Observer au microscope optique (objectif 40x ou 100x si immersion).
6. Élimination	Jeter la préparation dans un conteneur approprié après usage.

3- Étapes de la coloration May-Grünwald-Giemsa (F)

	Étape	Durée	
1	Coloration May-Grünwald	5min	
2	Rinçage rapide à l'eau tamponnée	10 secondes	
3	Coloration Giemsa diluée (1/10)	15min	
4	Rinçage à l'eau distillée	Quelques secondes	
5	Séchage à l'air libre	Jusqu'à séchage complet	

4- Tableau analyse in silico : (G)

	<i>Allium sativum</i>			<i>Rosmarinus officinalis</i>			
Molécules	Allicine	Diallyl disulfide (DADS)	Diallyl trisulfide (DATS)	1,8-Cinéole	Acétate de bornyle	Bornéol dérivé / camphène	Camphre ou dérivé
Absorption :							
1 -Caco-2 Permeability	Perméabilité cellulaire modérée à bonne,	Perméabilité modérée, compatible avec	Perméabilité faible, absorption	Perméabilité modérée, absorption	Perméabilité est faible à modérée,	Très faible perméabilité → absorption	Perméabilité cellulaire faible, absorption intestinale probablement limitée.
	favorable à l'absorption intestinale.	une absorption intestinale	intestinale probablement limitée.	intestinale acceptable.	absorption intestinale probablement réduite.	intestinale très limitée.	
2- PAMPA	Perméabilité modérée,	Perméabilité modérée,	Très bonne diffusion passive membranaire, absorption possible via voie passive.	Perméabilité modérée,	Faible Perméabilité	Très faible perméabilité absorption via diffusion passive très limitée.	Perméabilité passive faible à modérée, absorption par diffusion passive limitée

F20%	Bonne biodisponibilité	Bonne biodisponibilité	Bonne biodisponibilité	biodisponibilité	Faible biodisponibilité orale	biodisponibilité orale faible à très faible, absorption systémique limitée.	Biodisponibilité orale très faible, absorption systémique probablement insuffisante.
distribution							
1- PPB	Liaison modérée aux protéines plasmatiques, bonne fraction libre.	Liaison modérée, fraction libre circulante raisonnable.	Liaison faible, grande fraction libre circulante disponible.	Liaison très élevée aux protéines plasmatiques → très faible fraction libre.	Forte liaison aux protéines plasmatiques → très faible fraction libre disponible.	forte liaison aux protéines plasmatiques, faible fraction libre disponible.	Liaison modérée aux protéines plasmatiques, fraction libre circulante raisonnable (42.2%), ce qui favorise une bonne disponibilité du médicament pour l'action biologique
2- MRP1 inhibiteur	Faible inhibition, peu d'interaction.	Faible inhibition, faible probabilité d'interaction avec ce transporteur	Faible inhibition → faible potentiel d'interaction avec ce transporteur.	Inhibition modérée → potentiel d'interaction avec l'efflux cellulaire.	Inhibition forte → possible interaction avec les mécanismes d'efflux cellulaire.	Forte inhibition du transporteur MRP1, possible modification de la distribution et élimination.	Inhibition modérée du transporteur MRP1, indiquant un potentiel d'interaction avec les mécanismes d'efflux cellulaire, pouvant influencer la

							distribution et l'élimination
METABOLISME							
1- CYP1A2 inhibiteur	Inhibiteur fort ; risque d'interactions médicamenteuses.	. Inhibition modérée potentiel d'interaction médicament euse modéré.	Aucune inhibition → pas d'interaction attendue via cette enzyme	Aucun effet inhibiteur.	Forte inhibition, risque élevé d'interaction médicamenteuses	Aucun effet inhibiteur → métabolisme hépatique via cette voie peu concerné	Aucun effet inhibiteur détecté, métabolisme via cette enzyme peu concerné, profil sécuritaire favorable
CYP2C19 inhibiteur	Inhibiteur important, interactions possibles.	Inhibition forte, interactions cliniquement significatives possibles.	pas d'interaction enzymatique attendue	Faible inhibition enzymatique.	Aucune interaction attendue.	Aucun effet inhibiter.	Faible inhibition, interactions enzymatiques peu probables via cette voie.
CYP2D6 inhibiteur	Pas d'inhibition observée, favorable.	Aucune inhibition détectée ; profil sécuritaire favorable sur ce point.	Aucun effet inhibiteur → bon profil d'innocuité métabolique.	Aucun effet inhibiteur.	Aucune inhibition → bon profil de sécurité métabolique	Aucun effet inhibiteur → faible risque d'interactions.	Aucun effet inhibiteur, bon profil d'innocuité métabolique, faible risque d'interactions.

Excrétion							
CL _{plasma}	Clairance modérée, élimination équilibrée.	Clairance plasmatique modérée, élimination équilibrée.	Clairance plasmatique relativement faible, élimination lente.	Clairance plasmatique modérée, élimination équilibrée.	Clairance plasmatique élevée → élimination rapide.	Clairance plasmatique élevée → élimination rapide.	Clairance plasmatique élevée, élimination rapide du médicament, pouvant nécessiter des administrations fréquentes
T _{1/2}	Demi-vie courte, nécessite peut-être des prises fréquentes.	Demi-vie courte, pouvant nécessiter des administrations fréquentes.	Demi-vie courte, exposition systémique de courte durée	Demi-vie courte, nécessitant probablement une administration fréquente.	Demi-vie courte, exposition systémique limitée dans le temps	Demi-vie courte → exposition systémique limitée	Demi-vie courte à modérée, exposition systémique limitée dans le temps
Toxicité							
Toxicité orale chez le rat.	Toxicité orale modérée chez le rat.	Toxicité orale aiguë modérée (DL ₅₀ intermédiaire chez le rat).	Toxicité aiguë modérée (DL ₅₀ moyenne chez le rat).	Toxicité orale aiguë faible à modérée.	Toxicité orale aiguë relativement élevée.	Toxicité orale aiguë modérée.	Toxicité orale aiguë faible à modérée, profil de sécurité acceptable.

sensibilisation cutanée	Très haut risque de sensibilisation cutanée.	Risque très élevé de sensibilisation cutanée	Risque élevé de sensibilisation cutanée.	Risque élevé de sensibilisation cutanée	Risque très élevé de sensibilisation cutanée.	Risque modéré à élevé de sensibilisation cutanée..	Risque modéré de sensibilisation cutanée, prudence recommandée lors d'une exposition cutanée prolongée.
Irritation des yeux	Très fort risque d'irritation oculaire	Risque très élevé d'irritation oculaire.	Probabilité élevée d'irritation oculaire.	Risque très élevé d'irritation oculaire	Probabilité modérée d'irritation oculaire	Très probable effet irritant pour les yeux	Risque très élevé d'irritation oculaire, manipulation avec précautions nécessaires.
Hépatotoxicité humaine	Faible probabilité de toxicité hépatique humaine (risque principalement animal).	Faible probabilité de toxicité hépatique chez l'humain.	Risque modéré de toxicité hépatique chez l'humain.	Risque modéré de toxicité hépatique chez l'humain	Risque modéré à élevé de toxicité hépatique.	Risque modéré de toxicité hépatique humaine	Risque modéré de toxicité hépatique chez l'humain, surveillance recommandée.
Néphrotoxicité induite par les médicaments	Risque faible de toxicité rénale.	Très faible risque de toxicité rénale induite	Risque relativement élevé de toxicité rénale induite.	Faible risque de toxicité rénale	Très haut risque de toxicité rénale.	Faible risque de toxicité rénale induite par le médicament..	Faible risque de toxicité rénale induite par le médicament
Hématotoxicité	Risque faible de toxicité sur le sang.	Très faible probabilité d'effets indésirables sur les cellules sanguines.	Risque modéré d'effets indésirables sur les cellules sanguines.	Risque faible à modéré de toxicité hématologique.	Probabilité modérée de toxicité hématologique.	Très faible risque d'effets indésirables sur le sang.	Risque faible à modéré d'effets indésirables sur les cellules sanguines.



République Algérienne Démocratiques Populaire Ministère de
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLEB

FACULTE DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Spécialité : pharmacotoxicologie

**Étude de l'effet pharmacologique des extraits d'*Allium sativum*
et *Rosmarinus officinalis* : vers l'élaboration d'un Produit
biopharmaceutique**

Présenté par : GUENIF AYA

METAOUI INES

Soutenue le 02/07/2025

Devant le jury :

Dr AYACHI.N

Docteur

Président

Dr MENACERA

MAA

Examineur

Dr BOULESNAM S.L

Docteur

Encadrant

Dr AMOUKRANE. A

MCA

Co-promoteur

Année universitaire : 2024/2025