



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Biochimie appliquée
Filière : Sciences biologiques

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Soumia SAOULI et Bariza ABDENNEBI

Le: mercredi 30 septembre 2020

Thème

**Contribution à l'étude des caractéristiques
phytochimiques de l'extrait aqueux de
Rosmarinus officinalis L.**

Jury :

Mme. Fatima Zohra BENABDELLAH	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. Fadjeria YAAKOUB	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
M. Ahmed SIMOZREG	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciements

Nous remercions avant tout Allah tout puissant, de nous avoir guidé toutes les années d'étude et nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

On tient également à exprimer notre profonde gratitude et sincères remerciements à notre promotrice Madame YAAKOUB Fadjeria "Maître Assistante Classe A au département de biologie, faculté des sciences exactes de la nature et de la vie, l'Université Mohamed Khider Biskra", d'avoir proposé et dirigé ce travail ; on la remercie infiniment pour ses importantes remarques, ses orientations et ses conseils, sa patience, sa confiance, tout au long de ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres de jury, chacun de son nom, d'avoir accepté de juger et d'examiner notre travail.

Nos vives remerciements vont aussi aux ingénieurs de laboratoire; Mme Mofida, Mme Saliha, AbdelKader, Walid, et surtout Alima. Un grand respect et un grand remerciement à toutes ces personnes qui ont participé par leur disponibilité, leur gentillesse et leur aide chaque jour.

Nous adressons nos remerciements également à tous notre enseignants, pour les informations et les aides au coures des années de mes études.

Enfin, nous remercions tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir au moment que j'ai l'attendu

Je dédie mon modeste travail:

À mes très chers parents : Maman et Papa qui ont fait le possible pour moi, surtout Maman qui a été toujours avec moi, qui a souffrant durant toutes mes années d'études, franchement je ne peux pas exprimer autour de tous ce qui m'ont fait dès mon enfance jusqu'à ce moment.

À mes chères sœurs : Anissa, Haoua

À mes chers frères : Faouzi, Rayen, Ibrahim, Mohammed

À toute ma famille qui a toujours participé à me donner du courage et de la volonté.

À tous les enseignants qui ont contribués à ma formation

À tous mes amies et collègues et tous les assistants qui me connaissent.

Soumia

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail réalisé grâce a l'aide de dieu

*À mon très cher père Layachi qui a été toujours
présent pour moi. À la plus chère au monde, ma mère Meryem qui a
toujours m'encouragé durant toutes mes années d'études.*

À mes chères frères : Mohammed, Hassan, Samir

À mes chères sœurs : Sarhouda, Djaouhar, Siham, Kenza

À tout ma famille

À tous les enseignants qui ont contribués à ma formation

À mes chères amies et collègues et toute la promotion de 2^{ème} année master biologie.

Bariza

Sommaire

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction	1

Première partie: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. GENERALITES SUR LA PLANTE ET LES METABOLITES SECONDAIRES

1.1. Généralités sur la plante	3
1.1.1. Présentation de <i>Rosmarinus officinalis</i>	3
1.1.2. Description botanique.....	3
1.1.3. Classification botanique	4
1.1.4. Distribution géographique	4
1.1.5. Composition chimique du romarin	4
1.1.6. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin.....	4
1.1.7. Utilisation du Romarin	5
1.1.7.1. Utilisation en Phytothérapie.....	5
1.1.7.2. Utilisation alimentaires	5
1.1.7.3. Utilisation cosmétique.....	5
1.1.8. Précautions.....	5
1.2. Les métabolites secondaires.....	6
1.2.1. Les composés phénoliques	6
1.2.1.1. Les flavonoïdes	6
1.2.1.2. Tannins.....	7
1.2.1.3. Les quinones	7
1.2.2. Alcaloïdes	7
1.2.3. Les terpènes	7
1.2.4. Les saponines.....	7

Chapitre 2. LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

2.1. Activité antioxydant	8
2.1.1. Les radicaux libres.....	8
2.1.2. Le stress oxydatif.....	8

2.1.3. Conséquences du stress oxydatif	8
2.1.4. Les antioxydants	8
2.1.4.1. Les antioxydants enzymatiques	8
2.1.4.2. Antioxydants non enzymatiques	9
2.2. Activité antibactériennes	9
2.2.1. Généralité.....	9
2.2.2. Les principales substances antibactériennes	9
2.2.2.1. Les antibiotiques	9
2.2.2.2. Les composés phénoliques.....	9
2.2.3. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne	10
2.2.3.1. Aromatogramme	10
2.2.3.2. Méthode de dilution	10

Deuxième partie: PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel	11
3.1.1. Matériel végétal	11
3.1.2. Présentation de la région d'étude.....	11
3.2. Méthodes	12
3.2.1. Screening phytochimique	12
3.2.1.1. Test des alcaloïdes	12
3.2.1.2. Test des Flavonoïdes	13
3.2.1.3. Test des Tanins	13
3.2.1.4. Test des quinones	13
3.2.1.5. Test des saponines.....	13
3.2.1.6. Test des terpénoïdes	13
3.2.1.7. Test des composés réducteurs	13
3.2.1.8. Test des huiles volatiles	13
3.2.2. Procédé d'extraction	14
3.2.2.1. Préparation de l'extrait aqueux	14
3.2.2.2. Détermination du rendement.....	14
3.2.3. Tests quantitatifs.....	14
3.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	14

3.2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	15
--------------------------------------	----

Chapitre 4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Screening phytochimique	17
4.2. Le rendement d'extraction.....	20
4.3. Détermination des composés phénoliques	21
4.3.1. Teneurs en polyphénols totaux	21
4.3.2. Teneurs en flavonoïdes	23
Conclusion.....	25
Références	26
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	4
Tableau 2. Résultats de screening phytochimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	17
Tableau 3. Rendement de l'extrait aqueux du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	20

Liste des Figures

Figure 1. Feuilles et fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	3
Figure 2. Structure de base des flavonoïdes	6
Figure 3. Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique.....	9
Figure 4. <i>Rosmarinus officinalis</i> de la région d'Aïn Zaatout.....	11
Figure 5. Carte géographique de la région d'étude Aïn Zaatout Wilaya de Biskra.....	12
Figure 6. Dosage de polyphénols totaux	15
Figure 7. Dosage des flavonoïdes.....	16
Figure 8. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	22
Figure 9. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoides	23

Liste des abréviations

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

UV: Ultra violet

ADN : acide désoxyribonucléique

ROS: Reactive oxygen species

SOD: Superoxyde dismutase

CMI : Concentrations minimales inhibitrices

GPx : glutathion peroxydase

GSH: Glutathion

UV-Vis: Ultra violet visible

EAG: Equivalent de l'acide gallique

EQ : Equivalent de Quercétine

R (%): Rendement en %

R² : coefficient de corrélation linéaire

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (Lhuillier, 2007).

Les plantes médicinales sont considérées comme une source première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997).

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis*) une herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisée en médecine traditionnelle, elle fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires (Atik Bekkara et al., 2007).

Cette plante contient un grand nombre de substances qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie, Parmi ces composés on retrouve, les alcaloïdes, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun, 1997).

Le choix de *Rosmarinus Officinalis* L., est venu du fait de sa large propagation et de sa grande utilisation par l'humanité en médecine traditionnelle en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de :

Mettre en évidence et détection des métabolites secondaires par réalisation du screening phytochimiques de l'extrait aqueux de l'espèce de *Rosmarinus Officinalis*.

L'estimation de teneur de cette espèce végétale en composés actifs essentiels.

Notre mémoire comporte deux parties principales, à savoir :

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur *Rosmarinus officinalis*, des métabolites secondaires, ainsi que l'activité biologique antioxydante et antibactérienne.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel biologique et méthodologie du travail utilisée au laboratoire.

Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude suivie des discussions. Et enfin une conclusion avec des perspectives vient étoffer l'ensemble de notre travail.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1
Généralités sur la Plante
et les métabolites
secondaires

1.1. Généralités sur la plante

1.1.1. Présentation de *Rosmarinus officinalis*

Le *Rosmarinus officinalis* (romarin) est un arbuste aromatique appartient à la famille des lamiacées (labiées) qui est connus depuis l'oligocène. C'est l'une des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres (Bruneton, 1993).

Le romarin possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques et est aussi une herbe condimentaire, ainsi qu'un produit utilisé en parfumerie (Akroum, 2006).

Le nom latin *Rosmarinus* est interprété, comme dérivé "ros" de la rosée et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe loin de la mer (Heinrich *et al.*, 2006).

1.1.2. Description botanique

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*), plante peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur. Il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. Leur odeur, très camphrée. La floraison commence dès le mois de février et se poursuit jusqu'en avril- mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet. Comme pour la plupart des lamiacées, le fruit est un tétrakène (de couleur brune) (Zermane, 2010). (Figure 1)



Figure 1. Feuilles et fleurs de *Rosmarinus officinalis* L. (Bousbia, 2011)

1.1.3. Classification botanique

La classification de l'espèce *Rosmarinus officinalis* est comme suit: (Tableau 1)

Tableau 1. Classification botanique de *Rosmarinus officinalis* L. (Quezel et Santa, 1963)

Règne	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales (Labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

1.1.4. Distribution géographique

Le romarin spontané qui pousse sur le bassin méditerranéen, est souvent cultivé dans les jardins comme clôture, très exigeant en lumières et en chaleur, et résistant à la sécheresse. Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens (Boullard, 2001). À l'état sauvage il se trouve sur des sols calcaires (Escuder, 2007).

1.1.5. Composition chimique du romarin

Rosmarinus officinalis L. contient de 1 à 2% d'huile essentielle. Celle-ci renferme de l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 38%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène (Bellakhdar, 1997). En plus de l'huile essentielle on trouve dans le Romarin: des flavonoïdes, des tannins, des diterpènes tricyclique, des triterpènes, et des acides phénols, dont l'acide rosmarinique (Debuigne et Couplan, 2009) et de la résine (Beloued, 1998).

1.1.6. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

-Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (Lemonica *et al.*, 1996).

-Anti bactériennes, antimutagéniques, anti oxydantes (Ibenez *et al.*, 2000).

-Anti-inflammatoires, antimétastasiques (Cheung *et al.*, 2007).

-Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires et la prolifération des tumeurs cutanées (Singletary *et al.*, 1991).

-D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (Offord *et al.*, 1995).

-Selon Aruoma *et al.* (1996), le carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV). alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (Paris *et al.*, 1993).

1.1.7. Utilisation du Romarin

1.1.7.1. Utilisation en Phytothérapie

L'extrait agit sur les ulcères, et les dermatoses parasitaires. L'huile essentielle du romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine. Ainsi, elle soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire, combat les effets du stress et de la fatigue, et traite l'inflammation des voies respiratoires. Le romarin est un stimulant, antispasmodique, cholagogue. En cas de dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états des fièvres, de la grippe. Il est aussi un emménagogue, un diurétique, un anti-VIH, et anti-cancer (Bousbia, 2011).

1.1.7.2. Utilisation alimentaires

Le romarin est un aromate apprécié, aux utilisations culinaires diverses, dans les soupes, les marinades, sur les grillades sous forme de feuilles séchées. Aussi pour parfumer les flans et les confitures (Akroum, 2006). Les extraits du romarin présentent un pouvoir antioxydant et peuvent être appliqués à la conservation des aliments (Zoubeidi, 2004).

1.1.7.3. Utilisation cosmétique

L'extrait des feuilles est largement utilisé dans les cosmétiques, il entre dans la composition de plusieurs produits tels que les savons, les détergents et les parfums. Le niveau d'utilisation maximal signalé est de 1% (Khan et Abourashed, 2010).

1.1.8. Précautions

L'huile de romarin augmente la pression sanguine dans le cas d'une pression artérielle élevée, il peut être irritant pour la peau sensible. L'huile de romarin peut déclencher des crises d'épilepsie chez les personnes sensibles (Wilson, 2002).

1.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge *et al.*, 2002).

1.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques regroupent un ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. Il existe différentes classes, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins (Bessas, 2008).

1.2.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV et les attaques microbiennes (Bruneton, 2015). Ces molécules ont un poids moléculaire faible, représentées par 15 atomes de carbones arrangés comme suit : C6-C3-C6 composés de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle C (Nagendran, 2006) (Figure 2)

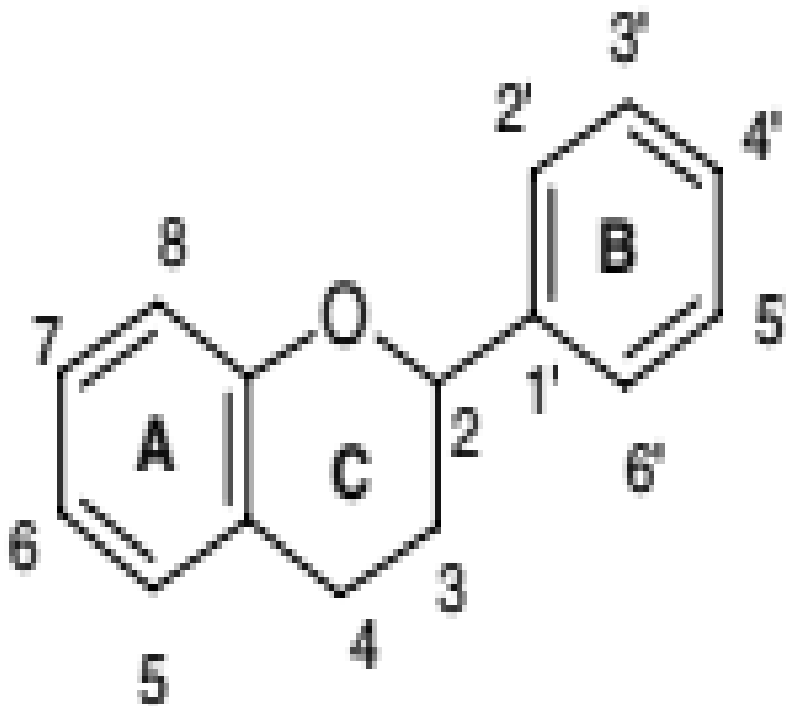


Figure 2. Structure de base des flavonoïdes

1.2.1.2. Tannins

Les tanins sont des composés ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da et qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Sur le plan structural, on distingue les tanins hydrolysables, esters d'acide phénolique, des tanins condensés plutôt des polymères de polyhydroxyflavan-3 ols (Fogliani, 2002).

1.2.1.3. Les quinones

Les quinones sont des noyaux aromatiques avec deux substitutions cétoniques (Arif *et al.*, 2009). Elles sont ubiquitaire dans la nature et sont fortement réactifs. Ce sont des substances colorées responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et végétaux coupés ou lésés (Cowan, 1999).

1.2.2. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique d'origine azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doté, à faible dose de propriétés pharmacologiques marquées. Le regroupement d'un tel ensemble est par ailleurs confirmé par des réactions communes de précipitation avec les « réactifs généraux des alcaloïdes» (Bruneton, 2009).

1.2.3. Les terpènes

Les terpènes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (à 5 atomes de carbone) (Harkati, 2011). On distingue : les monoterpènes en C 10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C 20, les triterpènes en C30 et tétraterpènes en C 40 (Rahmani, 2017).

1.2.4. Les saponines

Les saponines sont rencontrées chez de nombreux végétaux qui doivent leur nom au fait qu'elles moussant en solution aqueuse. Elles constituées d'un groupe aglycone de nature triterpéniques ou stéroïdique et d'une ou plusieurs chaînes glycosidiques (Sparg *et al.*, 2004).

Chapitre 2

Les activités biologiques

2.1. Activité antioxydant

2.1.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules (Dacosta, 2003).

Les radicaux libres sont produits par des sources variées : la pollution, la cigarette, le rayonnement UV, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (Favier, 2006).

2.1.2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et les pro-oxydants (Meda *et al.*, 2013). Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants ou la diminution de la défense antioxydant (Ece *et al.*, 2007).

2.1.3. Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut causer des dommages se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaire telles que l'oxydation de l'ADN, des protéines, et la peroxydation des lipides (Cook *et al.*, 2003).

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies telles que le cancer, vieillissement accéléré. Il est un des facteurs de genèse de maladies telles que la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 1997).

2.1.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau cellulaire des concentrations non cytotoxiques de ROS. On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

2.1.4.1. Les antioxydants enzymatiques

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avisar *et al.*, 1989). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau de l'anion superoxyde O_2^- et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Figure 3).

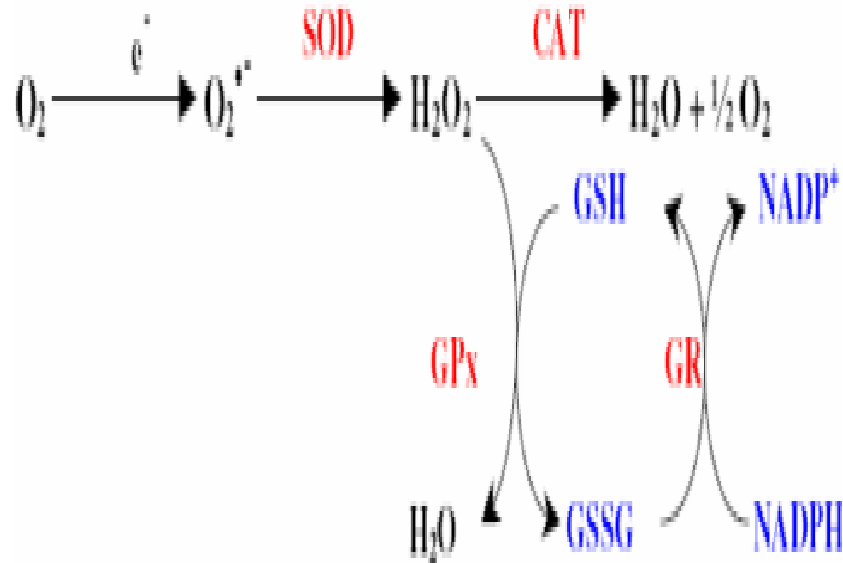


Figure 3. Mécanisme réactionnel invoqué dans la détoxification enzymatique (Kebili, 2016)

2.1.4.2. Antioxydants non enzymatiques

La plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et nécessitent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant, nous retrouvons les oligoéléments, les vitamines E et C et les polyphénols (Kanoun, 2011).

2.2. Activité antibactériennes

2.2.1. Généralité

La thérapeutique des infections bactériennes se base sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Yakhlef, 2010).

2.2.2. Les principales substances antibactériennes

2.2.2.1. Les antibiotiques

Un antibiotique est une substance antibactérienne naturelle, semi-synthétique ou synthétique, capable à faible dose de tuer ou d'inhiber spécifiquement la croissance du germe par un mécanisme particulier jouant sur ses mécanismes vitaux (Okusa Ndjolo., 2012).

2.2.2.2. Les composés phénoliques

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des

enzymes hydrolytiques ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

D'autres mécanismes d'action de polyphénols sont représentés dans la séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ainsi que l'inhibition du métabolisme microbien (Mila et Scalbert, 1994).

2.2.3. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne d'une substance peut être mise en évidence, *in vitro*, par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (El kalamouni, 2010).

2.2.3.1. Aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. (Pibiri, 2006).

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencés avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones d'inhibition autour des disques (Biyiti *et al.*, 2004). Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (Pibiri, 2006).

2.2.3.2. Méthode de dilution

La méthode de dilution est généralement utilisée pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices. Dans le milieu de culture, des volumes d'extraits sont introduits pour des concentrations précises puis ce milieu est inoculé par les microorganismes par la suite. Après incubation, la CMI est déterminée (Eloff, 1998). La lecture peut-être visuelle ou à l'aide d'un spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (Hellal, 2011).

Partie

Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Matériel végétal

La plante *Rosmarinus officinalis* (la partie aérienne) a été récoltée au mois de Janvier 2020 de la région Aïn Zaatout, Wilaya de Biskra (figure 4). La plante a été séchée à l'abri de la lumière pendant deux semaines. Une fois séchée le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un moulin électrique, puis conservés à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation. Le broyat obtenu est alors soumis à l'extraction aqueuse.



Figure 4. *Rosmarinus officinalis* de la région d'Aïn Zaatout

3.1.2. Présentation de la région d'étude

Aïn Zaatout est un village situé à latitude 35,14°Nord et longitude 5,83°Est entre les wilayas de Biskra et Batna au sud du massif montagneux des Aurès.

Aïn Zaatout distante de 50 Km au Nord de la wilaya de Biskra, aux limites des communes d'El Kantara et Djemmourah, d'un coté, et d'autre, la commune de Menaâ et Maafa (Djezzar, 2017). (Figure 5)



Figure 5. Carte géographique de la région d'étude Aïn Zaatout Wilaya de Biskra (Site web1)

3.2. Méthodes

3.2.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été réalisé sur l'extrait aqueux par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classique (Bruneton, 2009).

Les différentes techniques de détection utilisables pour un screening des composés actifs doivent être simples, rapides, reproductibles et sensibles. Ces méthodes sont donc qualifiées à la détection de quelques groupes chimiques (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, terpènes, composés réducteurs,...). Elles n'ont d'ailleurs qu'une valeur indicative, et une affirmation ultérieure par des méthodes plus précises et plus sélectives est indispensable (Wagner et Bladt, 1996).

➤ Préparation de l'infusion

D'après Waller et al. (2017), une quantité de 10 grammes de poudre a été infusée dans 100 ml d'eau distillée préalablement portée à ébullition dans un Erlenmeyer et laissé à température ambiante soit 15 min puis filtré à l'aide d'un papier filtre, le filtrat isolé représente l'infusé.

3.2.1.1. Test des alcaloïdes

On ajout 2 ml de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI + 1,27 g d'iode I₂ +100 ml d'eau distiller) à 2 ml de l'infusé. L'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes (Chaouch, 2001).

3.2.1.2. Test des Flavonoïdes

Dans un tube à essai, 1ml de l'infusé à tester a été mélangé avec 1 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge orangé ou jaune indique la présence des flavonoïdes (Harborne, 1998).

3.2.1.3. Test des Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 2 ml de l'infusé aqueux, 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl_3) diluée à 0,1%. L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence des tanins condensés ou bleu vert indique la présence des tanins hydrolysables (Harborne, 1998).

3.2.1.4. Test des quinones

À 2 ml de l'infusé, l'ajout de quelques gouttes de NaOH à 10%, Le virage de la couleur de la phase aqueuse au jaune, rouge ou violet témoigne de la présence des quinones (Dohou, 2004).

3.2.1.5. Test des saponines

À 1 ml de l'infusé aqueux, on a ajouté quelques volumes d'eau distillée dans un tube à essai. La solution a été agitée vigoureusement et l'apparition d'une mousse persistante stable pendant 20min témoigne la présence des saponines (Sabri *et al.*, 2012).

3.2.1.6. Test des terpénoïdes

La détection des terpénoïdes est mis en évidence par l'ajoute à 2 ml d'infusé, 2 ml d'acide anhydride, ensuite nous avons ajouté 1ml d' H_2SO_4 au fond du tube sans agitation. La formation d'une coloration brune rougeâtre à l'interface du l'extrait révèle la présence des terpénoïdes (Harborne, 1998).

3.2.1.7. Test des composés réducteurs

Introduire 1 ml d'infusé dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5ml réactif A et 0,5ml réactif B) et incuber l'ensemble 8 min. dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (Azzi, 2013).

3.2.1.8. Test des huiles volatiles

À 2 ml d'infusé, l'ajout de 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (10%) et quelques gouttes de HCl dilué a 10%, la formation d'un précipité blanc indique la présence d'huiles volatiles (Mojab *et al.*, 2003).

3.2.2. Procédé d'extraction

3.2.2.1. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux brut de la plante étudiée est obtenu par la décoction.

50g de poudre de *Rosmarinus officinalis* L. a été pesé et mélangé avec cinq cents millilitre (500 ml) d'eau distillée dans un erlenmeyer et bouilli pendant 30 minutes. Ensuite on le refroidit puis filtré à l'aide d'un papier filtre. Pour l'évaporation de l'eau distillée, le filtrat est placé dans l'étuve à 45°C jusqu'à l'obtention d'un extrait, conservé par la suite à + 4°C jusqu'à son utilisation (Dorman *et al.*, 2003).

3.2.2.2. Détermination du rendement

Le rendement en extrait sec est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité en gramme. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R (\%) = (M/M_0) \times 100$$

R (%): Rendement exprimé en %.

M: Masse en g de l'extrait sec résultant.

M₀: Masse en g de la matière végétale initial utilisée pour l'extraction (Carré, 1953).

3.2.3. Tests quantitatifs

3.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par Juntachote *et al.* (2006).

a) Principe

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, est de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Ribereau-Gayon *et al.*, 1968).

La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu, et possède une absorbance maximale à environ 760 nm (Ojeil *et al.*, 2010).

b) Mode opératoire

Un volume de 0.5 ml de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. est introduit dans des tubes à essais, contenant 5ml d'eau distillée et bien mélangé, puis le mélange (0.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Laisser reposer 3min et 0,8 ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 7.5%) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant une heure à la température ambiante et à l'abri de la lumière.

L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif (Juntachote *et al.*, 2006).



Figure 6. Dosage de polyphénols totaux

c) Expression des résultats

La concentration en polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression linéaire ($y=ax+b$), établie de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents d'acide gallique par g d'extrait sec de la plante (mg EAG /g d'extrait sec de la plante).

3.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par (Djeridane *et al.*, 2006) ainsi que (Boudiaf, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait.

a) Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle(OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (aluminium). Le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique, agissant comme donneur d'électrons (Ribereau-Gayon, 1968).

b) Mode opératoire

1 ml d'extrait de *Rosmarinus officinalis* L. est ajouté à 1 ml de solution méthanolique de trichlorure d'aluminium (AlCl₃ à 2%), le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble sont incubée une 10 min à température ambiante à l'obscurité. Effectuer la même opération pour le standard (quercétine) à différentes concentrations, l'absorbance est lue à 430 nm.

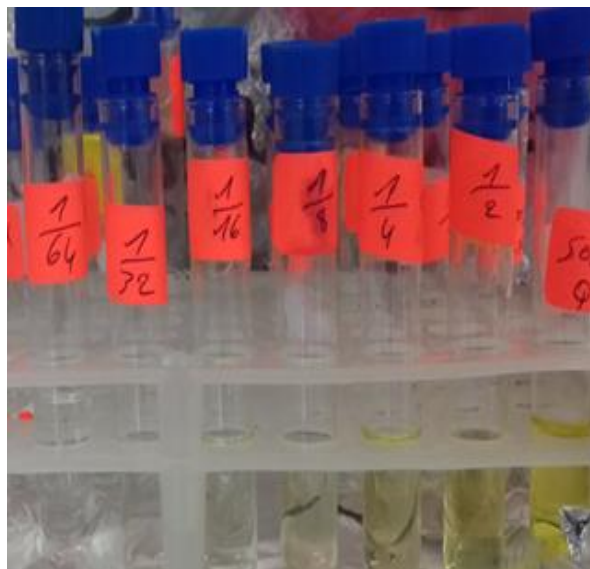


Figure 7. Dosage des flavonoïdes

c) Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été établie en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisé par un standard étalon la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$).









Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Screening phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* L. sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Résultats de screening phytochimique de *Rosmarinus officinalis* L.

Métabolites secondaires		Observation	Résultats
Alcaloïdes			+++
Flavonoïdes			+++
Tanins	Condensés		+++
	Hydrolysables		—
Terpénoides			++
Quinones			+++
Saponines			+++
Sucres réducteurs			+
Huiles volatiles			—

(+++): indique relativement une forte présence.

(++): indique relativement une présence moyenne.

(+): indique relativement une faible présence.

(-): indique relativement une absence

D'après les résultats obtenus dans le tableau 2, notre étude montre la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, terpénoïdes, tanins condensés, saponines, composés réducteurs, et quinones. Seule les huiles volatiles étaient absentes dans l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis*.

a) Les alcaloïdes

Les alcaloïdes dont leur présence est confirmée par l'apparition d'un précipité blanc jaune en quantité importante dans l'extrait aqueux, Ceci indique que *Rosmarinus officinalis* est riche en alcaloïdes. Ces résultats montrent une contradiction avec les résultats de Makhloufi (2013) qui a jugé l'absence de ces métabolites dans la plante étudié.

Selon N'Guessan *et al.* (2009), les alcaloïdes présentent des activités anti-spasmodique, anti-rhumatismal, analgésique et anticancéreuse. Leur effet laxatif est aussi révélé.

b) Les flavonoïdes

Notre étude montre le virage de la couleur au rouge orangé ce qui signifie la forte présence des flavonoïdes. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Fadili *et al.* (2015) et Gonzalez-Trujano *et al.* (2007). Et au même pour les travaux de Johar *et al.* (2015) qui indique une présence moyenne des flavonoïdes dans les feuilles de *Rosmarinus officinalis*.

Ces composés jouent des rôles très importants dans les plantes, dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique. Les flavonoïdes reconnus par de nombreuses activités biologiques, ils protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (Makhloufi, 2013).

c) Les tanins

Pour le test des tanins, le virage de la couleur au vert foncé, ce qui signifie la forte existence des tanins condensés (catéchiques), et l'absence des tanins hydrolysables dans l'extrait aqueux de Romarin. Makhloufi (2013), Johar *et al.* (2015) et Gonzalez-Trujano *et al.* (2007) indiquent la richesse de *Rosmarinus officinalis* en ces métabolites.

Selon Iserin (2001), les tanins permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (Makhloufi, 2013).

d) Les quinones

Le tableau 2 illustre également le contenu de l'extrait en quinones libres. Ces derniers sont confirmés par le virage de la couleur au rouge dans le milieu réactionnel. Les résultats enregistrent de forte présence de ces composés dans la plante. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Fadili *et al.* (2015) et Makhloufi (2013).

Les quinones ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin, en provoquant des contractions des parois intestinales, simulant les évacuations et facilitant ainsi le transit intestinal, cela explique l'effet stomachique du romarin (Makhloufi, 2013).

e) Les terpénoïdes

Le tableau n°2 laisse constater que l'extrait de la plante renferme des terpénoïdes. Ces derniers sont confirmés par l'apparition d'une coloration brune rougeâtre à l'interface, ce qui indique une présence moyenne de ces métabolites dans la plante. Selon les tests effectués par Fadili *et al.* (2015) et Johar *et al.* (2015), qui ont trouvés que les terpénoïdes semblent faiblement présents dans le romarin.

Les terpénoïdes connus par leurs propriétés antibactérienne et cardiotonique (Saad, 2017) et participent dans la protection contre les agressions des champignons (Makhloufi, 2013).

f) Les saponines

Le test de saponines indique l'apparition de mousse plus de 1cm de hauteur, confirme la forte présence des saponines dans la plante. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Johar *et al.* (2015) et de Makhloufi (2013), qui indiquent la richesse de *Rosmarinus officinalis* en ces métabolites.

La plante est très riche en saponines, ces molécules ont des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et anti-œdémateuse (Roux et Catier, 2007).

g) Les composés réducteurs

Notre étude montre que la présence des composés réducteurs est révélée par l'apparition d'une coloration rouge brique intense, ce qui signifie une présence importante de ces composés, ce qui infirme les travaux de Fadili *et al.* (2015) et de Johar *et al.* (2015).

Selon Makhloufi (2013), le contenu de *Rosmarinus officinalis* en composés réducteurs peut être le raison de l'effet antioxydant élevé de romarin.

h) Les huiles volatiles

Ce type de métabolite montre une absence dans l'extrait aqueux. Une étude de Makhloufi (2013) a trouvé que le *Rosmarinus officinalis* contient des huiles volatiles, par contre que l'extrait aqueux de cette plante ne contient pas des composés volatiles.

Enfin, la présence de ces composés biologiquement actifs au niveau de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* illustre leur utilisation par les populations dans le traitement de diverses maladies (Saad, 2017).

4.2. Le rendement d'extraction

Pour l'obtention d'un extrait à partir de poudre de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* nous avons réalisé une extraction aqueuse (par décoction).

L'extraction des composés phénoliques de la plante étudiée, nous a permis de déterminer le rendement de l'extrait brut sec (Tableau 3).

Tableau 3. Rendement de l'extrait aqueux du *Rosmarinus officinalis* L.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
Aqueux	Poudre	Brun claire	17,4

Le résultat obtenu lors de cette étude montre que l'extrait aqueux du *Rosmarinus officinalis* L. a donné un rendement important de 17,4%.

Dans une étude réalisée par Shama *et al.* (2014) qui a travaillé sur *Rosmarinus officinalis* L., originaire de Sudan, Des résultats trouvés pour le rendement de l'extrait aqueux étaient de 24.3%, et une étude réalisée par Dorman *et al.* (2003) ont trouvé que le rendement des extraits aqueux de *Rosmarinus officinalis* L., originaire de Finlande égale à 24%. Ces résultats sont supérieurs à nos résultats (17,4%).

Dans une autre étude de Hoefler (1994) qui a réalisé l'extraction aqueuse sur la même espèce, il a obtenu des rendements de l'ordre de 14,3 % et 16,2% des deux régions : Montrichard et St Arty /Caderonne en France à été récoltée en juin, et une étude réalisée par Tsai *et al.* (2007) sur la même espèce *Rosmarinus officinalis* L., les résultats trouvés montrent que l'extrait aqueux a donné un rendement de 16.3 %, cela signifie que notre résultat reste proche à ces travaux.

D'une manière générale, le rendement de la méthode d'extraction dépend de plusieurs facteurs tel que le temps d'extraction, la température, ainsi que la localisation géographique, la période de récolte, le climat et la durée de stockage (SU *et al.*, 2006). Et aussi il dépend de nature du solvant utilisé (Zhao *et al.*, 2006) et la méthode d'extraction appliquée (Wojdylo *et al.*, 2007).

4.3. Détermination des composés phénoliques

4.3.1. Teneurs en polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* est faite par l'utilisation de réactif de Folin Ciocalteu selon la méthode de Juntachote *et al.* (2006).

Cette quantification est réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage représentant les absorbances des différentes concentrations de l'acide gallique considéré comme un standard (0,001-0,1mg/ml), et déterminé par l'équation de type : $y = 8,737 x + 0,042$ sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0,973$ (Figure 6). Les résultats sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG /g).

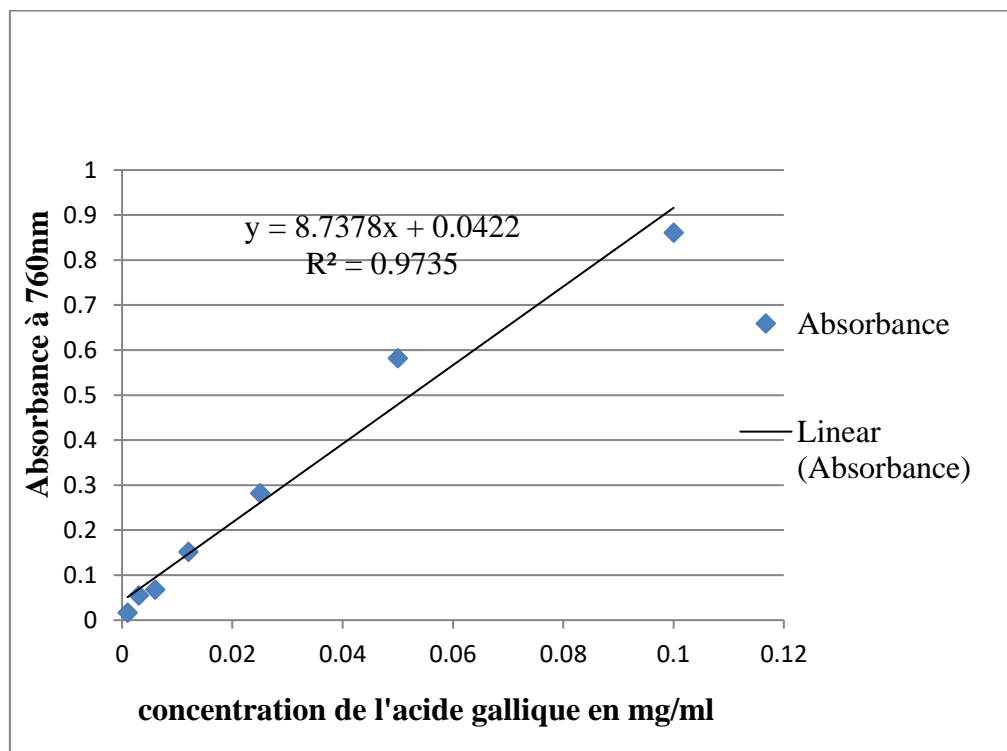


Figure 8. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* est de 749 mg EAG/g d'extrait. Le résultat montre que l'extrait aqueux est très riche en polyphénols.

Par ailleurs, la teneur en polyphénols des feuilles de *Rosmarinus officinalis* Française trouvées par Kosar *et al.* (2005), et par Aljabri (2020) pour l'extrait aqueux sont faibles par rapport à notre résultat, avec des teneurs de 200 mg EAG/g et 211 mg EAG/g d'extrait respectivement.

La teneur d'extrait aqueux de romarin est supérieure et très loin à celle de Dorman *et al.* (2003) et Chen *et al.* (2007) qui ont trouvés une teneur en polyphénols de 185 mg EAG /g, et de Megateli et Krea (2018) qui a été trouvé que la teneur de romarin prélevé de la région de Medea de 127.87 ± 2.1 mg EAG/g, par contre Tsai *et al.* (2007) a montré de teneur trop basse en comparaison à notre valeur (98.7 ± 5.9 mg EAG /g).

Salama *et al.* (2018) a été trouvé que la teneur des polyphénols dans l'extrait aqueux de romarin prélevé de la région de Cairo (Egypt) est égale à 33 ± 1.20 mg EAG/g, et par Tawaha *et al.* (2007) : 48.9 ± 2.3 mg EAG /g. les deux sont relativement pauvres en polyphénols.

le réactif du Folin-Ciocalteu dans le milieu réactionnel est très sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement dans les composés phénoliques, mais aussi dans certains sucres et de protéines (Vuorela *et al.*, 2004).

Selon Tawaha *et al.* (2007), Le dosage colorimétrique par ce réactif donne une estimation brute de tous les composés phénoliques présents dans l'extrait. Ce n'est pas spécifique aux polyphénols, mais de nombreux composés interférents peuvent réagir avec le réactif, donnant des concentrations phénolique apparentes élevées.

La teneur élevé en polyphénols dans l'extrait aqueux est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires. La variabilité de teneur des composons phénoliques est peut être due à la saison de récolte, la localisation géographique (Bentahar *et al.*, 2012), et à l'âge de la plante, plus la plante est jeune plus le taux des composés phénoliques qui y sont présents est élevé (Leclerc, 1994).

4.3.2. Teneurs en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par Djeridane *et al.* (2006) et Boudiaf (2006).

La teneur de flavonoïde de l'extrait a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage représentant les absorbances des différentes concentrations de la quercétine considéré comme un standard (0,39-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), et déterminé par l'équation de type : $y = 0,017x + 0,011$ sachant que le coefficient de corrélation est : $R^2 = 0,998$ (Figure 7). Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ}/\text{mg}$).

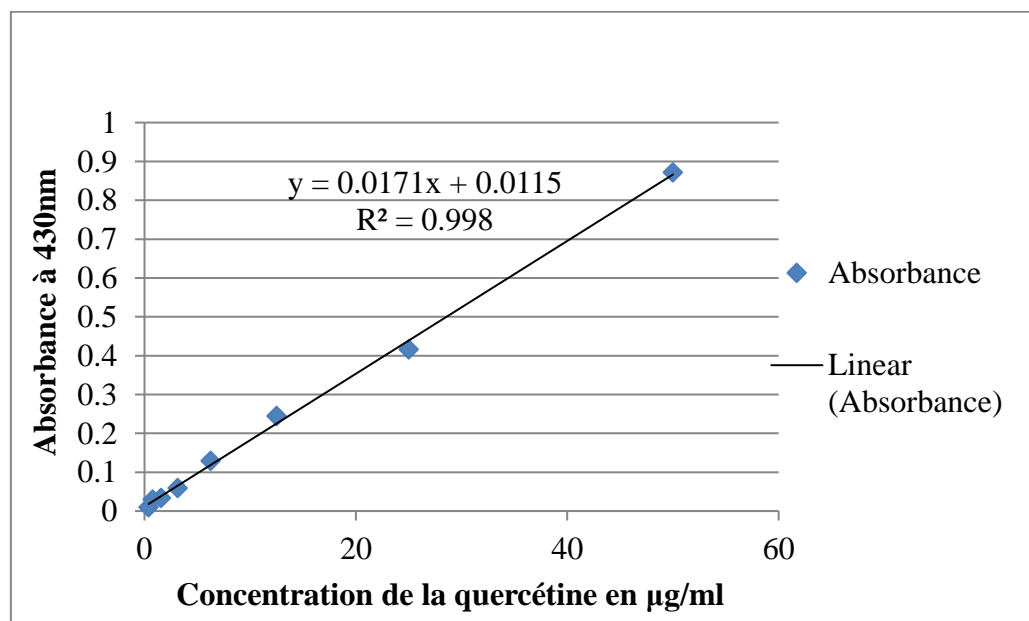


Figure 9. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* est de 416 µg EQ/mg d'extrait. Le résultat montre que l'extrait aqueux est très riche en flavonoïdes.

Une étude réalisée par Tsai *et al.* (2007) qui trouve un teneur de 128±0.8 µg EQ/mg, différent et très faible par rapport à notre résultat.

Les teneurs rapportées par Megateli et Krea (2018) en flavonoïdes de l'extrait aqueux de la même espèce de la région Medea est de: 14.48 ± 1.5 mg EQ/g, et par Aljabri (2020) : 4.32 mg EQ/g sont trop basse en comparaison à notre teneur (416µgEQ /mg).

D'après boussahel (2011), les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols, cela indique que les teneurs élevées en composés phénoliques sont logiques par comparaison aux flavonoïdes.

D'une manière général, la biosynthèse des métabolites secondaires d'une plante tels que les polyphénols, et leur concentration peut être liée aux conditions climatiques difficiles (la température élevée, exposition solaire, sécheresse et la salinité). En effet, le contenu phénolique d'une plante dépend d'un nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (environnement, manipulation et stockage) (Falleh *et al.*, 2008).

Conclusion

Conclusion

Depuis l'antiquité les plantes font partie de la vie humaine, dans leur nourriture et leur usage thérapeutique. De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales parmi lesquelles *Rosmarinus officinalis*, qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétique et l'alimentaire. Ces plantes médicinales restent toujours la source fiable des substances bioactives connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'extraction aqueuse de la plante sèche de *Rosmarinus officinalis* permettant l'obtention d'un rendement important de 17.4%.

D'après l'analyse qualitative effectuée par les tests phytochimiques il s'est avéré que *Rosmarinus officinalis* L., est une plante riche en métabolites secondaires : alcaloïdes, flavonoïdes, tanins (condensés), les quinones, terpènes, saponines et composés réducteurs. Tandis que les huiles volatiles sont totalement absentes dans l'extrait aqueux. Ces composants qui peuvent conférer à cette espèce ses vertus thérapeutiques.

La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes de l'extrait obtenu a permis de déduire que le romarin très riche et constitue une source prometteuse des composés phénoliques. Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux sont respectivement de l'ordre de 749 mg EAG/g et 416 µg EQ/mg d'extrait sec de la plante.

Enfin, on peut conclure que le *Rosmarinus officinalis* constitue une bonne source de substances bioactives pourraient être destiné comme une source alternative naturelle pour les différents secteurs de la médecine, de la pharmacologie, et de l'alimentation.

En perspective, il est intéressant de :

Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies sur les composants biochimiques et leur structure, ainsi que la détermination des différentes activités biologiques *in vitro* et *in vivo* de chacun de ces composés pris séparément.

Déterminer de nouvelles substances bioactives pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques dans le futur.

Références Bibliographiques

Références

A

- Akroum S. 2006. « Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L* ». Thèse de magistère, Université Mentouri de Constantine, 91 p.
- Aljabri M. 2020. Composition and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract. Eurasian Journal of Biosciences, 14: 2179-2185.
- Arif T., Bhosale JD., Kumar N., Mandal TK., Bendre RS., Lavekar S., Dabur R. 2009. Natural products- antifungal agents derived from plants. J Asian Nat Prod Res. 11, 7: 626-638.
- Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N. Munoz A., Murcia A., Butler J. et Halliwell B. 1996. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herb. Food and Chemical Toxicolog 34(5):456.
- Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb bendiab S. A., Boti J. B., Casanova J. 2007. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé. 7: 6-11.
- Avissar N., Whitin J.C., Allen P.Z. 1989. Plasma sélénium-dépendent glutathionperoxydase. Biol. Chem. 2: 15850-15855.
- Azzi R. 2013. Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen, p 179.

B

- Bahorun T. 1997. Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentiel. Food and agricultural resarch Council, Réduit, Mauritius. 83-94.
- Bellakhdar J. 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris, 764 p.
- Beloued A. 1998. Plantes médicinales d'Algérie. 2ème Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274p.
- Bessas A. 2008. Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltent dans le sud Algérien, édition universitaire européennes, Allemagne, 160p.
- Biyiti L.F., Meko'o D.J.L., Tamzc V., Amvam Z.P.H. 2004. Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. Traditional pharmacology and medicine in Africa. 13: 11-20.
- Boudiaf K. 2006. Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister, Sétif.

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

Bousbia N. 2011.Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat, université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 127p.

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

Bruneton J. 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicales. Lavoisier TEC et DOC 1^{ème} édition, Paris.

Bruneton J. 2009.Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc (4^{ème} Ed.), Paris, 1268 p.

Bruneton J. 2015. Pharmacognosie (5^o Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris. 1504pp.

C

Carrée P. 1953.Précis de technologie et de chimie industrielle. Edition Ballière, Paris, 475 p.

Chaouch A., 2001. Etude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées). Mémoire de magister, Université d'Ouargla, P 44.

Chen H.Y., Lin Y. C., Hsieh C. L. 2007.Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. Food Chemistry 104:1418–1424.

Cheung S., Tai J. 2007.Anti-proliferative and antioxidant properties of *Rosemary Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports*. 17 (6): 1525-1531.

Cook J.W., Taylor L. M., Orloff S. L., Landry G. J., Moneta G.L., Porter J. M., 2003. Homocysteine and arterial disease. Experimental mechanisms. *Vascular Pharmacology*. 38: 293-300.

Cowan M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4):564-570.

D

Dacosta Y. 2003.Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p.317.

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

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97 : 654-660.

Djezzar S. 2017. Etude du génotype urbain et de la logique socio-morphologique d'un système vernaculaire Aurèssien. « Cas de Beni Ferah ». Mémoire de magister, Université Mohamed Khider Biskra, pp.144-145.

Dohou N. 2004. Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de thymeleae lythroïdes, thèse de doctorat, Maroc, 59 p.

Dorman H. J. D., Hiltunen R., Tikkanen M. J. 2003. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry* 83: 255–262.

E

Ece A. Gurkan F. Celik F, Boşnak M. Yel S. Balik H. Erel O. 2007. Paraoxonase, total antioxidant activity and peroxide levels in marasmic children: relationships with leptin. *Clinical Biochemistry Journal*, Vol 40(9-10), pp. 634-639.

El kalamouni C., Marzouk B., Menut C. 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits des plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorats, Université de Toulouse.

Eloff J.N. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. 64(8): 711-3.

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

F

Fadili K., Amalich F., Soro K., dedianhoua N., Bouachrine M, Mahjoub M., El Hilali F., Zair H. 2015. Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*.

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

Favier A. 2003. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*. 108-117p.

Favier A. 1997. Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* 55, 9-16.

Favier A. 2006. Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy SAGE Journal*, Vol 64, pp. 390-396.

Fogliani B. 2002. De la connaissance physiologique des Cunoniaceae endémiques de la nouvelle-Calédonie, à la recherche des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de

leurs substances bioactives d'intérêt. Thèse de Doctorat en physiologie végétale et phytochimie, pp 42-52.

G

González-Trujano M. E., Peña E.I., Martínez A. L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Déciga-Campos M. 2007. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. J. Ethnopharmacol. 111: 476–82.

H

Harborne J. B. 1998. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of Plant analysis, Third Edition, Springer, Netherlands, 302p.

Harkati B. 2011. Valorisation et identification structural des principes actifs de la plante de la famille des Asteraceae : *Scorzonera undulate*. Thèse de Doctorat. Université Mantouri de Constantine, 128P.

Heinrich M., Kufer J., Leonti M., Pardo-de-Santayana M. 2006. Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. J Ethnopharmacol.107: 157-160.

Hellal Z. 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus: Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magister." Biochimie appliquée et Biotechnologies". Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p. 16-17.

Hoefler C. 1994. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de Doctorat, Université de Metz, France, 146p.

I

Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S., Reglero G. 2000. Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). Journal of Agricultural and Food chemistry, 48 (9):4060-4065.

Iserin P. 2001. Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse, pp10, 335.

J

Johar S., Irfan S., Ahmed S.S., Jabeen R. 2015. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. against Escherichia coli. Local isolates. International Journal of Basic and Applied Sciences 4 (4):413-421.

Juntachote T., Berchofer E., Siebenandl S., Bauer F. 2006. Theantioxydative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork.meatscience.72: 446-456.

K

Kanoun K. 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus Communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 118p.

Kebili Z. 2016. Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits d'*Ephedra alata* de la région d'Ouargla. Mémoire de Magister, Université Kasdi Merbah, Ouargla, p 19.

Khan I. A., Abourashed E. A. 2010. Leung's encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. John Wiley & Sons, Inc P. 536- 537.

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

L

Lemonica I. P., Damasceno D. C., Di-Stasi L. C. 1996. Study of the embryo toxic effects of an extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*). Brazilian journal of medical and biological research. 29 (2): 223-227.

Lhuillier A. 2007. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.

Lutge U., Kluge M., Bauer G. 2002. Botanique. 3^{ème} édition, Traité fondamental. Tech et Doc Lavoisier, Paris, 211p.

M

Makhloufi A. 2013. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de Doctorat, Université Aboubaker Belkaid, 136p.

Maurice N. 1997. L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Lavoisier, Paris, p. 12-14.

Meda N. T. R., Bangou M. J., Bakasso S., Millogo-Rasolodimby J., Nacoulma O.G. 2013. Antioxidant activity of phenolic and flavonoid fractions of *Cleome gynandra* and *Maerua angolensis* of Burkina Faso. Journal of Applied Pharmaceutical Science 3(2): 36-42.

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

Mila I., Scalbert A. 1994. Tannin antimicrobial properties through iron deprivation a new hypothesis. International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance 381(2):749-755.

Mojab F., Kamalinejad M., Ghaderi N., Vanidipour H. R. 2003. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.*(3): 77-82.

N

N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G. N., Traoré D., Aké-Assi L. 2009. Screening photochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-D'ivoire). *Sci. Nat.*, 6: 1-15.

Nagendran B., Kalyana S., Samir S. 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry.* 99: 191-203.

O

Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoe A., Pfeifer A. M. 1995. Rosemary components inhibit benzo (a) pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis.* 16(9):2057-2062.

Ojeil A., El Darra N., El Hajj Y., Mouncef P. B., Rizk T. J., Maroun R. G. 2010. Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château KSARA. *Lebanese science journal* 11, 117-131.

Okusa Ndjolo P. 2012. Etude phytochimique et activité antimicrobienne directe et indirecte de *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). Thèse de doctorat. " Sciences Pharmaceutiques". Université Libre De Bruxelles, P. 26.

P

Paris A., Strukelj B., Renko M., Turk V., Pukl M., Umek A., Korant B. D. 1993. Inhibition effects of carnosic acid on HIV-I protease in cell free assays. *Journal of natural products.* 56 (8): 1426-1430.

Pibiri M. 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, école polytechnique fédérale de Lausanne. 161p.

Q

Quezel P., Santa, S. 1963. La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. CNRS. Paris. 360-361 p.

R

Rahmani H. 2017. Contribution à l'étude phytochimique et valorisation de l'espèce *Agave americana* L. dans l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, 135p.

Ribéreau-Gayon P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris. P 254.

Roux D., Catier O. 2007. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition, Wolters Kluwer, pp 141.

S

Saad S. 2017. Analyse de la diversité chimique par les composés phénoliques, *Marrubium deserti* De Noé. Etude ethnobotanique et propriétés médicinales. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene USTHB/Alger, 110p.

Sabri F. Z., Meriem B., Samira S., Muneer M. A. 2012. Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. *J Nat Prod Plant Resour* 2, 512-516.

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

Shama I.Y. A., Abdullah A.Y. A., Adam K. M. O., Aldai M. A. B. Omer A. M. A-R., Abdelgadir W.S. 2014. In vitro Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* leave extracts. *Journal of Agri-Food and Applied Sciences*. Vol. 2(1), pp. 15-21.

Singletary K. W., Nelshoppen J. M. 1991. Inhibition of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer letters*. 60 (2): 169-175.

Sparg, S., Light, M., & Van Staden, J. 2004. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of ethno pharmacology*, 94(2): 219-243.

Su X., Duan J., Jian Y., Shi J., Kakuda Y. 2006. Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of Oolong tea's food composition Anal. 19: 348- 353.

T

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

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

V

Vuorela S., Meyer A. S., Heinonen M. 2004. Impact of Isolation Method on the Antioxidant Activity of Rapeseed Meal Phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 52: 8202–8207.

W

Wagner H., Blatt S. 1996. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media.

Waller S. B., Madrid I. M., Hoffmann J. F., Picoli T., Cleff M. B., Chaves F. C., Faria R. O., Meireles M. C. A., Mello J. R. B. 2017. Chemical composition and cytotoxicity of extracts of marjoram and *rosemary* and their activity against *Sporothrix brasiliensis*. Journal of Medical Microbiology; 66:1076-1083.

Wilson R. 2002. « Aromatherapy: Essential Oils for Vibrant Health and Beauty»; Edition Penguin, pp116.

Wojdylo A., Oszmian´ski J., Czemerys R. 2007. Antioxidant activity and phenolic Compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry 105: 940–949.

Y

Yakhlef G. 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *thymus vulgaris* et *laurus nobilis* L. Thèse de magister en biologie. Université El Hadj Lakhdar, Batna, p.78.

Z

Zermane A. 2010. Etude de l'extraction supercritique Application aux systèmes agroalimentaires. Thèse de doctorat, université de Mentouri., Constantine, 120 p.

Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., shan L., Lin Y., Fan W., Gu G. 2006. Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and Selectivity for free phenolic compounds in barley *Hordeum vulgare* L. J. Agric. Food Chemistry 54: 7277–7286.

Zoubeidi C. 2004. Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis* .Labiatea .Thèse de magistère, université d'Ouargla, 45 p.

Sites web

Site web 1: <https://www.bing.com/maps/>

Résumé

Résumé

الملخص

يركز هذا العمل على الدراسة الكيميائية النباتية النوعية والكمية للنبتة *Rosmarinus officinalis* تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لتأثيراتها العلاجية المختلفة.

في هذه الدراسة، كانت نسبة الاستخلاص لهذه النبتة بالماء المقطر في المادة الجافة مهمًا بنسبة 17.4%. وافق اختبار الفحص الكيميائي النباتي على الثراء في المستقلبات الثانوية: القلويات، العفص المكتف، الفلافونويد، التربينات، الكينونات، الصابونين والمركبات المختزلة، بينما الزيوت المتبخرة غائبة في المستخلص المائي. تم إجراء تحديد البوليفينول والفلافونويد بواسطة طرق folin-ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. أعطى البوليفينول (749 ميليغرام مكافئ حمض قاليك/ غرام مستخلص) والفلافونويد (416 ميكروجرام مكافئ كرسنين/ ميليغرام مستخلص). أثبت التحليل الكمي أن المستخلص المائي لهذه النبتة غني جدًا بالبوليفينول والفلافونويد.

كشفت نتائج هذه الدراسة أنه يمكن اعتبار *Rosmarinus officinalis* كمصدر بديل طبيعي لقطاعات الغذاء والصيدلة والطب.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis*، الفحص الكيميائي النباتي، البوليفينول، الفلافونويد.

Résumé

Ce travail se concentre sur l'étude phytochimique qualitatif et quantitatif d'une espèce de *Rosmarinus officinalis* largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses divers effets thérapeutiques. Dans la présente étude le rendement de l'extraction de cette plante par l'eau distillée en matière sèche est important de 17.4 %. Le test de screening phytochimique a approuvé la richesse en métabolites secondaires: alcaloïdes, tanins condensés, flavonoïdes, terpènes, quinones, saponines et composés réducteurs, tandis que les huiles volatiles ont été absentes dans l'extrait aqueux. Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes a été effectué par les méthodes de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium respectivement. Les polyphénols donnent (749 mg EAG/g ES) et les flavonoïdes (416µg EQ/mg ES). L'analyse quantitative a montré que l'extrait aqueux de cette plante est très riche en polyphénols et flavonoïdes.

Les résultats de cette étude révèlent que *Rosmarinus officinalis* pourrait être considéré comme une source alternative naturelle pour les secteurs de l'alimentation, de la pharmacologie et de la médecine.

Les mots clés : *Rosmarinus officinalis*, Screening phytochimique, polyphénols, flavonoïdes.

Abstract

This work focuses on the qualitative and quantitative phytochemical study of a species of *Rosmarinus officinalis* widely used in traditional medicine for its various therapeutic effects. In the present study the yield of the extraction of this plant by distilled water in dry matter is important of 17.4%. The phytochemical screening test approved the richness in secondary metabolites: alkaloids, condensed tannins, flavonoids, terpenes, quinones, saponins and reducing compounds, while volatile oils were absent in the aqueous extract. The determination of polyphenols and flavonoids was carried out by the methods of Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride respectively. Polyphenols give (749 mg EAG / g ES) and flavonoids (416 µg EQ / mg ES). Quantitative analysis has shown that the aqueous extract of this plant is very rich in polyphenols and flavonoids.

The results of this study reveal that *Rosmarinus officinalis* could be considered a natural alternative source for the food, pharmacology and medicine sectors.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids.